

TIEREXPERIMENTELLE UND
KLINISCHE UNTERSUCHUNGEN
MIT AUTOLOGEN UND HETEROLOGEN IMPLANTATEN
IN DER ASEPTISCHEN KNOCHENHÖHLE

Michael Schreiber

1972

AUS DER CHIRURGISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. R. ZENKER

**TIEREXPERIMENTELLE UND
KLINISCHE UNTERSUCHUNGEN
MIT AUTOLOGEN UND HETEROLOGEN IMPLANTATEN
IN DER ASEPTISCHEN KNOCHENHÖHLE**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Michael Schreiber

aus Köln

München 1972

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. R. BEDACHT
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. R. ZENKER
Dekan:	Prof. Dr. W. SPANN

Tag der mündlichen Prüfung: 7. 3. 1972



INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG	5
ALLGEMEINER TEIL	7
I) Das Binde- und Knochengewebe	7
1) Die Bindegewebszellen	7
2) Die Knochenzellen	7
a) Die Osteoblasten	7
b) Die Osteozyten	8
c) Die Osteoklasten	8
3) Die Interzellulärsubstanzen	9
4) Die Struktur des Kollagens	9
a) Im Bindegewebe	9
b) Im Knochengewebe	10
5) Die Grundsubstanz	10
a) Im Bindegewebe	10
b) Im Knochengewebe	10
II) Die Entstehung des Knochengewebes	10
SPEZIELLER TEIL	13
I) Tierexperimentelle Untersuchungen	13
1) Herstellung von Kollagen-Implantaten	14
a) Heterologer, denaturierter Kollagenschwamm (nach Braun)	14
b) Heterologe native Kollagenimplantate (nach Chvapil)	14
2) Vorversuche an Ratten	15
a) Histologische Untersuchungen	15
b) Planimetrische Untersuchungen	16
3) Hauptversuche in der Tibiahöhle des Kaninchens	16
a) Untersuchungsergebnisse in der aseptischen Knochenhöhle	18
aa) Makroskopische Vergleichsuntersuchung	18
bb) Röntgenuntersuchungen	13
Heterologe und autologe Knochen-Implantate	
cc) Szintigraphische Untersuchungen	28
dd) Bakteriologische Untersuchungen	29
ee) Histologische Untersuchungen	29
4) Auswertung und Zusammenfassung eigener tier- experimenteller Untersuchungsergebnisse	36

II) Zur Klinik der aseptischen Knochenhöhle	40
1) Autologe und heterologe Substanzen zur Auf- füllung der aseptischen Knochenhöhle	40
2) Zur Klinik der autologen und heterologen Knochen-Implantate	44
a) Nachuntersuchte Krankheitsfälle	44
b) Bewertung des heterologen, denaturierten Kollagen-Implantates	48

DISKUSSION

50

ZUSAMMENFASSUNG

57

LITERATURVERZEICHNIS

59

E I N L E I T U N G

Zu Beginn dieser Arbeit sollen einige grundsätzliche Erläuterungen zur Art und Funktion des menschlichen Binde- und Stützgewebes gegeben werden, bevor auf den eigentlichen Sinn und Zweck der durchgeführten Untersuchungen und Experimente eingegangen wird.

Das Bindegewebe, wozu trotz seiner Differenziertheit auch der Knochen zu zählen ist, besteht, um von einem groben Schema auszugehen, aus Zellen, Gefässen, Fasern und der artspezifischen Grundsubstanz. Auf Grund der unterschiedlichen Struktur des Bindegewebes sind diese aufgeführten Bestandteile nicht gleichmässig in diesem vertreten. So besitzen den grössten Anteil an Interzellulärsubstanz, die aus zweierlei Substrat besteht, nämlich aus Fasern und Mukopolysacchariden, das Binde- und Stützgewebe. Je nach Gewebsspezifität liegt das Übergewicht auf Seiten des geformten oder ungeformten Anteiles. Aufgabe der Interzellulärsubstanz sind einerseits die Metabolitenfunktion zur Versorgung der in ihr liegenden Zellen und Gefässe, andererseits ist sie mitverantwortlich für die Festigkeit des Körpers, wobei primär an den Knochen in seiner Artverwandtheit zum Bindegewebe zu denken ist. Von diesem unterscheidet er sich praktisch nur durch seine spezifische Festigkeit, die durch eine besondere Mineralablagerung begründet ist. Das Stützgewebe des Bindegewebes wie des Knochens ist das Kollagen, das sich trotz der strukturspezifischen Differenziertheit sehr ähnlich ist. Die Härtung des Knochens wiederum wird durch Einlagerung von Apatitkristallen in die Kollagenfasern provoziert. Binde- und Stützgewebe, die durch diverse chemotechnische Verfahren konserviert werden, sind devitalisiert. Werden nun diese devitalisierten Fremdimplantate in den lebenden Organismus eingepflanzt, so ergeben sich 3 Möglichkeiten:

1. Das Material wird abgekapselt und resorbiert,
2. es wird frühzeitig abgestossen oder
3. es wird, was als wünschenswert anzusehen ist, durch gleichartiges lebendes Gewebe im Organismus ersetzt.

Tritt dieser letztgenannte Fall ein, in dem das Fremdimplantat in ein körpereigenes Regenerat umgebaut wird, so hiesse dies, dass dieses

Implantat die funktionellen oder biologischen Anforderungen am Implantationsort erfüllt. Als hauptsächlicher Gradmesser für den Wert homogener Transplantate gilt der Knochen. LONGMIRE hat beschrieben, dass dieses "homoiostatische" Transplantat lediglich eine Leitschienenfunktion für das körpereigene Regernat ausübt.

In zahlreichen Veröffentlichungen wird diese Leitschienenfunktion auch bei anderen Implantaten oder Transplantaten, z.B. bei kollagenem Faserewebe erwähnt. Hierbei hat sich gerade bei Kollagen durch neu entwickelte Verfahren die Antigenwirksamkeit sehr reduzieren lassen. Die Methode wird folgendermassen praktiziert: Das Rohmaterial für die Präparation des Kollagenimplantates besteht aus Schweine- oder Kalbshaut, die längere Zeit mit einem proteolytischen Enzym behandelt wurde, um dadurch die nichtkollagenartigen Proteine zu entfernen. Bei der Bearbeitung des Kollagenimplantates wird also das lösliche Kollagen entfernt und die unlösliche aufgeschwemmte Menge Kollagen wird durch Lyophilisation, d. i. schonende Entwässerung und Konservierung biogener, eiweisshaltiger Substanzen in einen Schwamm verwandelt.

In der chirurgischen und orthopädischen Klinik hat man es hauptsächlich mit grossen Knochenhöhlen zu tun, für die ein geeignetes und quantitativ ausreichendes Füllmaterial oft nicht zur Verfügung steht. Andererseits ist eine schnelle bindegewebige Konsolidierung wünschenswert, um der Infektionsgefahr begegnen zu können. Unsere Aufgabe war es daher, zu prüfen, ob das Kollagen, auch im Vergleich zu bisher verwandten Implantationsmaterialien, als Füllstoff in der aseptischen Knochenhöhle die Bildung von Granulations-, Binde- bzw. Knochengewebe ermöglicht oder forciert. Auf Grund tierexperimenteller Untersuchungen an Ratten und Kaninchen wollten wir als erstes erforschen, ob das aus tierischer Haut hergestellte native Kollagen oder das von anderen Bindegewebsproteinen befreite heterologe, denaturierte Kollagen bezüglich seiner Verwendbarkeit Unterschiede aufweist. Durch diese tierexperimentellen Untersuchungsergebnisse wurde es dann ermöglicht, das aus Schweinehaut hergestellte heterologe, denaturierte Kollagen als Knochenimplantat in der Klinik anzuwenden. Zum besseren Verständnis der tierexperimentellen und klinischen Untersuchungen ist es angebracht, kurz auf die neuesten Erkenntnisse in der Struktur des Binde- und Stützgewebes einzugehen.

ALLGEMEINER TEIL

1) DAS BINDE- UND KNOCHENGeweBE

1) BINDEGEWEBSZELLEN

Das Bindegewebe besteht aus Fibroblasten und Fibrozyten, spindelförmige Zellen, deren Aufgabe die Bildung und Konservierung der Bindegewebsfasern ist. Die Bindegewebszellen, vor allem aber die Fibroblasten, stellen die Bildungsstätte des Kollagen dar. Der Entstehungsort des Kollagenmoleküls liegt im endoplasmatischen Reticulum der Fibroblasten. Nach der Absonderung lagern sich diese Moleküle als Filamente in der Nähe der Zelle an, wo es dann zur Kristallisation und zur Bildung von quergestreiften Fibrillen kommt. Ausser diesen aufgeführten Zellen sind im Bindegewebe aber auch noch Histiozyten, Plasmazellen, Mastzellen und die verschiedenartigen humoralen Zellformen anzutreffen, deren hauptsächliche Aufgabe die Phagozytose, die Histaminfreisetzung und die Bindung eingedrungener Antigene sind. Hinzu kommt noch die spezifische Fähigkeit der unreifen Lymphozyten, sich im Bindegewebe oder am Ort der Infektion in Fibrozyten, Plasmazellen oder Histiozyten, wie auch im letzteren Fall die Monozyten es vermögen, umzuwandeln. Dadurch sind sie im Stande, durch die Mutation in Plasmazellen, die Antikörperbildung an Ort und Stelle einzuleiten. (LINDNER, SCHWARZ, STAUBESAND).

2) DIE KNOCHENZELLEN

Verantwortlich für den Knochenaufbau, die Knochenresorption und den Stoffwechsel sind spezifische Zellen, zu denen die Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten zählen.

a) Die Osteoblasten

Diese sind massgebend an der Entstehung des Bindegewebsknochens beteiligt, die damit beginnt, dass Mesenchymzellen Interzellulärsubstanz wahrscheinlich in amorpher Form in die sie umgebende Gewebsflüssigkeit ausscheiden. Dabei können diese Zellen im Netzverband des Mesenchym bleiben, aber auch sich daraus lösen und mehr oder minder abrunden. Die Ausscheidung dieser Interzellulärsubstanz jedoch kenn-

zeichnet sie als Knochenbildner, als sogenannte Osteoblasten. Dies sind grosse Zellen, reich an: Ergastoplasma, Ribosomen, Mitochondrien, alkalischer Phosphatase und Betaglucoronidase. Die von den Osteoblasten ausgeschiedene Interzellulärsubstanz des Knochens gliedert sich in kollagene Fibrillen als geformten Anteil und in Kittsubstanz als ungeformten Anteil. Die Zahl der Osteoblasten wird durch Teilung der vorhandenen und durch das Hinzukommen anderer Mesenchymzellen vermehrt. Infolge fortschreitender Ausscheidung von Interzellulärsubstanz entstehen die vorerst noch kalkfreien Osteoidbälkchen. Diesen lagern sich Osteoblasten aussen auf und bauen ebenfalls Osteoid an. So wächst der Knochen durch Anbau von aussen, also appositionell. Die in die Osteoidbälkchen eingeschlossenen Osteoblasten stellen allmählich ihre Tätigkeit ein. Sofern sie die Verbindung aufgegeben haben, stellen sie diese durch Aussendung von Zelleibfortsätzen in die Interzellulärsubstanz wieder her und erneuern so das ursprüngliche mesenchymale Zellnetz.

b) Die Osteozyten

Die in die Interzellulärsubstanz eingeschlossenen, ruhenden Zellen sind die Knochenzellen, die Osteozyten. Sie unterhalten einen regen Stoffwechsel, worauf der Einschluss von Granula, Vacuolen und Fett in ihren Zelleibern schliessen lässt; sie aber besitzen im Gegensatz zu den Osteoblasten wenig Mitochondrien, wenig Ergastoplasma und meist keine Fermente, was auf eine geringere Aktivität hindeutet.

c) Die Osteoklasten

Mit dem Aufbau der Knochenbälkchen pflegt ein zeitweilig nicht minder starker, dem Umbau dienender Abbau vor sich zu gehen. Diesen besorgen vielkernige Riesenzellen, sog. Zellplasmodien, die Osteoklasten; sie gehen aus Mesenchymzellen hervor. Die Osteoklasten nagen die Knochenbälkchen an, vermutlich mit Hilfe von Fermenten, die sie bilden; aber sie phagozytieren auch Teilchen der Interzellulärsubstanz. Die Stellen, an denen die Osteoklasten liegen, nachdem sie sich in die Bälkchen eingefressen haben, werden Howship'sche Lagunen genannt.

3) DIE INTERZELLULARSUBSTANZEN

Die Interzellulärsubstanzen werden von den Zellen erzeugt und sind im Gegensatz zu diesen tote Stoffe. Sie sind das Material, mit dem die Zellen den Körper errichten und zugleich ihre Behausungen, in denen sie leben. Mit diesen Substanzen bauen die Zellen die Gewebe des Körpers auf.

Zwei Anteile der Interzellulärsubstanz sind zu unterscheiden: Ein geformter und ein ungeformter. Der geformte Anteil besteht aus Fasern, die infolge verschiedener stofflicher Zusammensetzungen und Eigenschaften reticuläre, kollagene und elastische Fasern genannt werden; Dazu kommen die kollagenen Fibrillen des Knorpels und Knochengewebes. Diese, wenn auch morphologisch und funktionell verschiedenen Fasern, haben folgendes gemeinsam: sie sind aus Proteinen sowie aus einer kleinen Kohlenhydratkomponente aufgebaut und lösen sich nicht in neutralen Lösungsmitteln. Der zweite Anteil der Interzellulärsubstanz, der ungeformte, führt je nach seiner Beschaffenheit die Bezeichnung Grundsubstanz oder Kittsubstanz. Ungeformt heisst er, weil er strukturlos, homogen ist; in ihm sind die Fasern und Fibrillen eingelagert. Als Grundsubstanz ist die ungeformte Interzellulärsubstanz flüssig, als Kittsubstanz mehr oder minder fest. Sie besteht aus Mucopolysacchariden, d. s. Protein-Kohlenhydratkomplexe, umgekehrt wie bei den Fasern überwiegt der Anteil der Kohlenhydrate. Die Mucopolysaccharide, welche die Grund- und Kittsubstanz zusammensetzen, sind die Hyaluronsäure und die Chondroitinschwefelsäure; erstere ist der Hauptbestandteil der Grundsubstanz und letztere der Hauptbestandteil der Kittsubstanz. Beide Anteile der Interzellulärsubstanz treten gemeinsam auf, wobei jedoch bald der geformte, und bald der ungeformte das Übergewicht hat. Am reichsten an Interzellulärsubstanz sind die Binde- und Stützgewebe. Die Interzellulärsubstanz hat eine zweifache Aufgabe. Sie ist die Gewebstütze und gibt als solche dem Körper relative Festigkeit. Für die in ihr liegenden Zellen und Gefässe ist sie ausserdem die Zwischenträgerin für Nährstoffe und Zellerzeugnisse; hierfür eignet sich in besonders hohem Masse die mehr oder minder flüssige Grundsubstanz (WALLRAFF).

4) DIE STRUKTUR DES KOLLAGENS

a) Im Bindegewebe

Unterscheidungsmerkmale des Faserproteins Kollagen von den meisten anderen Proteinen sind seine Faserstruktur und vor allem die ungewöhn-

liche Aminosäurezusammensetzung. Enthalten sind in Kollagen Tyrosin, Histidin, Methionin, Prolin und Glycin, das allein fast $1/3$ der gesamten Aminosäuren ausmacht. Hinzu kommen noch 2 Aminosäuren, die sonst nur im Bindegewebe vorzufinden sind, nämlich Hydroxyprolin und Hydroxylysin (SCHMIDT). Das Kollagen ist aufgebaut aus stäbchenförmigen Molekülen in einer Länge von 3000 AE und einer Dicke von 14 AE. Synthetisiert wird es in der Zelle als Tropokollagenmolekül, von wo es anschliessend als steifes Stäbchen in den Interzellularraum abgegeben wird, wo der Übergang vom löslichen Prokollagen zum unlöslichen Kollagen und die eigentliche Fibrillenbildung stattfindet.

Die verschiedenen chemischen bzw. biochemischen Vorgänge darzulegen, würde über den Rahmen dieser Arbeit hinausgehen.

b) Im Knochengewebe

Bestandteile des organischen Knochenanteiles sind Kollagen, Grundsubstanz und Glykogen. Die organische Knochenfraktion besteht zu 95 % aus Kollagen (EASTOE; NEUBERGER). Der Anteil des Kollagens am Gesamteiweiss des Körpers beläuft sich auf 25 - 35 %, wovon wiederum ca. 40 % im Knochen enthalten sind. Im Gegensatz zum übrigen Kollagen im Körper besitzt das Knochenkollagen die Fähigkeit zu verkalken. Die Kollagenfasern im Knochen besitzen eine Dicke von 800 AE und eine regelmässige Querstreifung mit einer Periode von ungefähr 630 AE in der Längsrichtung. Die Einlagerungsstätte der Kristalle des Knochensalzes befinden sich zwischen diesen Querstreifen. Eingelagert werden können neben den Kalzium- und Phosphationen auch Magnesium, Strontium, Fluor und Blei oder auch andere organische Verbindungen, wo diese Substanzen irreversibel gebunden werden. Durch Radioisotopenuntersuchungen wurde bewiesen, dass das Mineral im Knochen innerhalb der Kollagenfibrillen abgelagert wird. Ausserdem wurde durch gleichartige Untersuchungen gezeigt (FIRSCHLEIN, MILLER), dass eine enge Beziehung zwischen dem Mineral und dem Kollagenumsatz im normalen Knochen sowie bei heilenden Frakturen festzustellen ist.

5) DIE GRUNDSTANZ

1) Im Bindegewebe

Im Bindegewebe finden wir zweierlei Kohlenhydratkomponenten vor.

1. Die Kohlenhydrate, die zum Kollagen gehören und fest an dieses gebunden sind und
2. die Kohlenhydrate, die der Grundsubstanz angehören

ren. Die Mucopolysaccharide, die in den einzelnen Bindegeweben erheblich variieren, werden wie die Kollagene von spezifischen Bindegewebszellen synthetisiert. Aufgabe der Mucopolysaccharide im Knochen, Knorpel und Fasergewebe ist es, die Festigkeit und Haltbarkeit des Stützgewebes zu garantieren. Dazu sind sie noch primär verantwortlich für den Stofftransport, den Wasser- und Elektrolythaushalt und die Steuerung der Permeabilität der Gefässmembranen.

b) Im Knochengewebe

Die Grundsubstanz des Knochens besteht vornehmlich aus Polysacchariden, Polymeren eines Hexosamins und einer Glukuronsäure, die mit einem Protein zu einem Mucoprotein verbunden ist. Nach Untersuchungen von LOEVEN, SYLVEN sind die Mucopolysaccharide des Knochens ähnlich in ihrem Aufbau, ihren Eigenschaften und ihren Funktionen wie die Mucopolysaccharide anderer Bindegewebe. Es ist erwiesen, dass der Anteil von Mucopolysacchariden im Röhrenknochen von Männern im Alter abnimmt (NEUBERGER, PERONE, SLAKE) und dass die grösste Konzentration von Mucopolysacchariden in den Wachstumszonen vorhanden ist, während in der Diaphyse nur kleinere Konzentrationen gefunden wurden. Ausserdem wurde ein hoher Gehalt von Mucopolysacchariden im Granulationsgewebe bei der Knochenbruchheilung festgestellt, wobei die Konzentration am 7. posttraumatischen Tag ansteigt und am 55. Tag wieder abfällt.

II) DIE ENTSTEHUNG DES KNOCHENGEWEBES

Grundbedeutung bei der Entstehung des Bindegewebsknochens kommt der Mesenchymzelle zu. Sie scheidet amorphe Interzellulärsubstanz in die sie umgebende Gewebsflüssigkeit ab, wobei diese Zellen im Mesenchymzellverband selbst verbleiben oder aber sich davon lösen und abzurunden. Wie bereits schon erwähnt, wird diese Ausscheidung von Interzellulärsubstanz von spezifischen Zellen ausgeführt, nämlich den Osteoblasten. Die Interzellulärsubstanz des Knochens wird einerseits gebildet von den kollagenen Fibrillen als dem geformten Anteil, andererseits aus der Grundsubstanz als ungeformtem Anteil. Als rein organische Bestandteile gelten: das Kollagen als Gerüsteiweiss der Fibrillen, sowie das Osseomucoid und das Osseoalbumid.

Als nächste Stufe wird der Ersatzknochen hyalinknorpelig vorgebildet, wobei die Ossifikation des Knorpels vom Perichondrium ausgeht. Aus der zellreichen osteogenen Schicht, die dem Knorpel direkt anliegt, entstehen die Osteoblasten, von denen die perichondrale Knochenbildung eingeleitet wird. Gleichzeitig wird der Knorpel durch das ein-sprossende Bindegewebe aufgelöst, wodurch der knorpelfreie primäre Markraum entsteht. Ein Teil der Bindegewebszellen verwandelt sich in Chondroklasten, von denen die Interzellulärsubstanzreste des Knorpels aufgelöst werden, der andere Teil bildet sich um zu Osteoblasten, die wiederum die knöcherne Interzellulärsubstanz erzeugen. Bei der enchondralen Ossifikation werden im Gegensatz zur perichondralen Reste der knorpeligen interzellulären Substanz eingeschlossen. Wie der Bindegewebsknochen sind auch der enchondrale und perichondrale Knochen ein Geflecht- und Bälkchenknochen, wobei der enchondrale sehr viele und weite, der perichondrale Knochen nur wenige und enge Markräume besitzt. Die Markräume werden von embryonalem Bindegewebe, das am Knochenaufbau unbeteiligt ist, mit primärem Mark ausgefüllt, aus dem dann durch Differenzierung in Reticulum- und Blutbildungszellen das endgültige, auch sekundäre genannte, Knochenmark hervorgeht (BARGMANN, WALLRAFF).

Die Knochenzellen erzeugen bei der Ossifikation das nicht mineralisierte Osteoid, das durch das Fehlen der an die Kollagenfibrillen gebundenen Apatitkristalle, welche den Fibrillen die Druck- und Scherfestigkeit verleihen, gekennzeichnet ist. Auch für die Knochenneubildung sind die Osteoblasten verantwortlich, denn sie liefern die Substrate für die Bildung von Tropokollagen und Mucopolysacchariden, sowie für ihre eigene Phosphatase. Den Osteozyten wiederum obliegt, wie angenommen wird, die Regelung des Umsatzes der Proteine und Mucopolysaccharide in dem Fasergewebe, in dem sie liegen. Ebenso ist der Stoffwechsel des Knochens - Aufbau, Resorption und Umbau - an die Zellpopulation gebunden, zu der die Osteoblasten, die Osteozyten und die Osteoklasten gehören. Spezielle Funktion der Osteoklasten ist der Abtransport der Knochenabbauprodukte.

S P E Z I E L L E R T E I L

Bei unseren tierexperimentellen Untersuchungen wollten wir als erstes prüfen, welches Kollagen - das heterologe, native oder das heterologe, denaturierte - als Implantat in der Knochenhöhle die erhofften Bedingungen am besten zu erfüllen vermag. Um dabei den optimalen Wirkungsgrad und die Überlegenheit des Kollagens gegenüber andersartigen Implantaten herauszufinden, haben wir im Rahmen unserer Tierversuche auch Vergleichsuntersuchungen mit anderen autologen und heterologen Implantaten durchgeführt.

I) TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN

Die tierexperimentellen Untersuchungen wurden von uns an 40 Ratten und 126 Kaninchen, vorwiegend gleichen Geschlechts, Gewichtes und Alters, vorgenommen. In verschiedenen Zeitabständen wurden röntgenologische, szintigraphische, bakteriologische, belastungsphysikalische und vor allem histologische Untersuchungen angestellt.

Das Ziel war festzustellen, ob eine rasche Bindegewebsbildung und Knochenbildung mit heterologen Kollagenimplantaten möglich ist. Wie bereits erwähnt, wurden hierzu heterologe, denaturierte und heterologe native Kollagenimplantate verwendet. Auch wurden wegen der Verwendbarkeit der Kollagene Vergleichsuntersuchungen mit anderen autologen und heterologen Implantaten durchgeführt. Mein Hauptinteresse bestand darin, herauszufinden, ob das Kollagenimplantat 1. als Füllmaterial in aseptischen Knochenhöhlen verwendet werden kann und 2. ob es gegenüber den bisher gebräuchlichen Implantatmaterialien qualitativ gleichwertig ist oder eventuell sogar gewisse Vorteile aufzuweisen hat.

1) HERSTELLUNG HETEROLOGER, DENATURIERTER UND HETEROLOGER NATIVER KOLLAGENIMPLANTATE

a) Heterologer, denaturierter Kollagenschwamm (nach Braun)

Das Ausgangsmaterial zu dem Kollagenschwamm bildet Schweinehaut. Diese wird zerkleinert, entfettet und durch Einwirkung von Alkali aufgequollen. Daraufhin erfolgt eine Homogenisation der gequollenen Kollagenmasse, die dann zur Alkalientfernung dialysiert wird. Nach diesem Vorgang liegt eine Kollagenlösung vor, der eine bestimmte Menge von Alginat zugesetzt wird. Die sich hierbei ergebende Mischung wird dann in Schalen ausgegossen und durch Kombination mit Elektrolyten angereichert, wobei ein poröses Gel gebildet wird, aus dem im folgenden Arbeitsgang Stücke herausgeschnitten werden, die der Grösse der Kollagendeckfolie (nach Braun) entsprechen. Diese Stücke werden mit physiologisch unbedenklichen Gerbstoffen, wozu insbesondere aliphatische zweiwertige Aldehyde zu rechnen sind, behandelt. Durch Gerben des Kollagenschwammes werden zusätzlich intramolekulare Querverbindungen hinzugefügt, die dem Kollagenimplantat eine stärkere strukturelle Konsistenz verleihen, wodurch eine Verzögerung des Resorptionsvorganges erreicht wird. Überschüssiges Gerbmittel wird entfernt durch Wässern und die etwa 1 cm dicken Schichten werden dann gefriergetrocknet. Anschliessend wird der Kollagenschwamm in Kunststoffbeutel eingeschweisst und durch Bestrahlen mit Gammastrahlen sterilisiert.

b) Heterologe native Kollagenimplantate (nach Chvapil)

Im einzelnen bestanden die heterologen nativen Kollagenimplantate aus

1. gegerbtem Kollagenschwamm in Kombination mit Bacitracinpuder,
2. gegerbtem Kollagenschwamm in Kombination mit Bacitracinpuder und Quarz (Korngrösse kleiner als 3μ),
3. aus Gelkollagen mit hydrophilem Glykolmetachrylat.

Die Grundsubstanz der heterologen nativen Kollagenimplantate ist saures, gequollenes, tierisches Hautkollagen aus Rinder- bzw. Kalbshäuten. Dieser Kollagenmasse werden unter Einhaltung eines sauren pH-Wertes Gerbstoffe, wie z.B. Glyoxalformaldehyd, Glutardialdehyd oder ähnliches zugemischt. Unter Homogenisieren wird Luft eingerührt, wodurch ein schwammartiges Gebilde entsteht. Diese Masse wird dann

entsprechend der gewünschten Form in Schalen ausgestrichen und in der Tiefkühltruhe eingefroren. Daraufhin wird für längere Zeit die Kollagenmasse einer bestimmten Temperatur überlassen, die unter dem Gefrierpunkt liegt. Nun werden die auf diese Weise gefrorenen Kollagenstücke bei Zimmertemperatur wieder aufgetaut, wobei man schwammartige Strukturen erhält. Von diesen wird das überschüssige Wasser abgepresst und das dadurch vorgetrocknete Material wird an der Luft ausgetrocknet. Bevor das Gerbmittel zugegeben wird, erreicht man durch den Zusatz von Weichmachern, z. B. Glycerin, die gewünschte weiche Konsistenz des Schwamms. Nach der Verpackung in Kunststoffbeutel werden auch die nativen Kollagenimplantate mit Gammastrahlen sterilisiert.

Um einen eventuellen Unterschied in der Bindegewebsbildung feststellen zu können, wenn heterologes, denaturiertes Kollagen oder heterologes natives Kollagen angewandt wurde, wurden tierexperimentelle Untersuchungen an Ratten durchgeführt, die hierin die gewünschte Klärung bringen sollten.

2) VORVERSUCHE AN RATTEN

Operationstechnik: Bei diesen Versuchen verwendeten wir 40 Ratten, die im Ätherdampf narkotisiert wurden. Die Implantation der Kollagenpräparate wurde unter völlig aseptischen Bedingungen durchgeführt. 5 x 8 mm grosse Stücke von heterologem, denaturiertem und heterologem nativem Kollagen wurden von uns dabei subkutan unter die Rückenhaut der Ratte implantiert. Nach 10, 20, 35 und 60 Tagen wurden die Tiere getötet und untersucht. Hierbei wurden zur histologischen Untersuchung etwa 5 - 10 μ dicke Paraffinschnitte hergestellt und angefärbt.

a) Histologische Untersuchungen

Bei den histologischen Untersuchungen fanden wir heraus, dass das Kollagengerüst schon nach 10 Tagen von ortsständigen Fibroblasten ergriffen ist. 60 Tage nach Implantation von heterologem, denaturiertem Kollagen zieht sich eine kräftige Bindegewebsneubildung im Implantationsbereich. Von grossem Interesse bei diesen Untersuchungen war, dass alle Kollagenimplantate, sowohl die heterologen, denaturierten als auch die heterologen nativen reizlos im Subkutangewebe der Ratten einheilten. Dies war um so bemerkenswerter, als bei diesen Untersuchungen auf eine Antibiotikaprophylaxe verzichtet wurde.

b) Planimetrische Untersuchungen

Von jeder Versuchsreihe wurden 3-6 Schnitte mikroskopisch auf ihre Kerndichte untersucht. Die jeweiligen Präparate waren mit Haematoxylin-Eosin gefärbt und ca. $10 - 15 \mu$, dick. Mit der Ölimmersion wurden bei einer Vergrößerung von etwa 2000 die Zellkerne ausgezählt, wobei die ausgezählte Fläche jeweils durch einen quadratischen Raster begrenzt wurde, der im Okular eingebaut war. Bei der Projektion auf das Präparat hat dieser Raster eine Kantenlänge von 0,11 mm. Zur Auszählung der Zellkerne wurden diejenigen Gebiete herausgefunden, die färbetechnisch am besten dargestellt waren. Dabei wurden nur die als Fibroblastenkerne diagnostizierten Zellkerne ausgezählt. Das waren bei jedem Präparat etwa 10 - 20 % in Relation zur Gesamtmenge der Kerne. Pro Schnitt wurden 16 Flächenquadrate ausgezählt, woraus der Mittelwert und dessen geringste Streubreite errechnet wurden.

Nachdem sich bei diesen Vorversuchen an Ratten keine wesentlichen Unterschiede in der Bindegewebsbildung der verschiedenen heterologen Kollagenimplantate ergaben, konnten wir diese Substanzen nun auch in der Knochenhöhle des Kaninchens zur Anwendung bringen.

3) HAUPTVERSUCHE IN DER TIBIAHÖHLE DES KANINCHENS

Auch bei diesen Versuchen wurden die bereits vorher beschriebenen Kollagenimplantate benützt. Sinn dieser Versuchsreihe war es herauszufinden, ob vielleicht in der Knochenhöhle ein Unterschied in der Verwendungsmöglichkeit von heterologem, denaturiertem oder heterologem nativem Kollagenpräparat besteht. Primär von Interesse war jedoch bei diesen Versuchen der Vergleich von Kollagenimplantaten mit anderen autologen und heterologen Materialien, wie z.B. autologer Muskulatur, autologem Knochenmark, heterologem Kieler Hartspan und heterologer Kieler Spongiosa. Diese Implantate wurden geprüft in der aseptischen Knochenhöhle und, was aber für diese Arbeit nicht von Bedeutung sein sollte, bei einer zweiten Versuchsreihe, in der mit Staphylokokken infizierten Knochenhöhle des Kaninchens.

Operationstechnik: Mit durchschnittlich 3-4 ccm Nembutal wurden die Kaninchen zunächst narkotisiert. Nach der Präparation der Haut wurde der Schienbeinanteil freigelegt. Nun schnitt man ein ca. 6×10 mm grosses Knochenfenster aus, worauf die Auslöfflung des Markgewebes erfolgte und anschliessend die Implantation der verschiedenen heterologen bzw. autologen Implantate vorgenommen wurde. Zur Infek-

tionsprophylaxe erhielten die Tiere bei den Versuchen in der aseptischen Knochenhöhle eine einmalige intramuskuläre Antibioticum-Gabe injiziert, die nach dem Gewicht des Kaninchens, das durchschnittlich zwischen 3200 und 3500 g lag, berechnet war. Vor der Einbringung wurde das jeweilige Kollagen-Implantat in steriler Kochsalzlösung angefeuchtet und ein 5 x 8 mm grosses Stück in die ausgelöffelte proximale Schienbeinmarkhöhle des Kaninchens eingelegt. Von gleicher Grösse waren auch die nativen Kollagen-Implantate, der heterologe Kieler-Hartspan, die heterologe Kieler-Spongiosa sowie die autologe Muskulatur. Das aus dem rechten Schienbeinkopf exstirpierte Knochenmark wurde anschliessend in den vorher präparierten linken Schienbeinkopf eingebracht.

Der Wundverschluss erfolgte jeweils in typischer Weise: Nach Implantation der verschiedenen autologen oder heterologen Implantate wurde das excidierte Knochenfenster wieder in den Ursprungsort eingepasst, daraufhin die Fascie und die Haut mit Zwirnnknopfnähten verschlossen. Zum Schutz der Wunde wurde nach Jodierung Nebacetin-Puder und Nobecutan-Spray aufgebracht.

Das operative Verfahren war in allen Versuchsserien - nach zweimaliger Operation und folgender Inspektion der Markhöhle - das übliche. Bei letzteren jedoch wurde den autologen und heterologen Implantaten lokal ein Antibioticum zugesetzt und auch in der postoperativen Phase erhielten die Tiere Antibiotica, wobei als halbsynthetisches Antibioticum Stapenor oder Albiotic verwandt wurde. Bei den heterologen nativen Kollagen-Implantaten war eine zusätzliche lokale Antibiotica-Zugabe nicht notwendig, da diese Präparate bereits mit Bacitracin versetzt waren.

Die postoperative Lebensdauer der Tiere belief sich auf 2, 4, 6, 8 bzw. 12 Wochen. Für die anstehenden Untersuchungen wurden beide Schienbeine im Knie- und Sprunggelenk exarticuliert. Nach Anfertigung von Röntgenaufnahmen wurden anschliessend mit dem elektrisch betriebenen Scheibenmesser bei gleichzeitiger Wasserkühlung etwa 5 mm dicke Knochenscheiben aus dem Schienbein herausgeschnitten, wobei regelmässig ein bakteriologischer Abstrich entnommen wurde. In einigen Fällen wurde auch der makroskopische Befund der Knochenschnittfläche photographisch festgehalten. Hinzu kam noch, dass ungefähr bei einem Drittel der Tiere die Einheilung der Implantate anhand von Szintigrammen kontrolliert wurde. Das hauptsächliche Interesse bei allen Untersuchungen bestand jedoch an der Histologie. Aus diesem Grund wurden von jedem Kaninchen Knochenschnitte histologisch erforscht.

a) Untersuchungsergebnisse
in der aseptischen Knochenhöhle

aa) Makroskopische Vergleichsuntersuchung

Vergleicht man makroskopisch auf der Knochenschnittfläche heterologes, denaturiertes Kollagen mit dem aus mazeriertem Kalbsknochen hergestellten Kieler Hartspan - 6 Wochen nach Implantation - dann kann man feststellen, dass am Kieler-Hartspan (3B) keine Umbau- oder Resorptionsvorgänge eingetreten sind. Die Konturen dieses heterologen Implantates sind noch gut von der Umgebung abzugrenzen. Das implantierte heterologe, denaturierte Kollagen (3A) jedoch lässt zum gleichen Zeitpunkt eine weitgehende bindegewebige Durchsetzung erkennen.

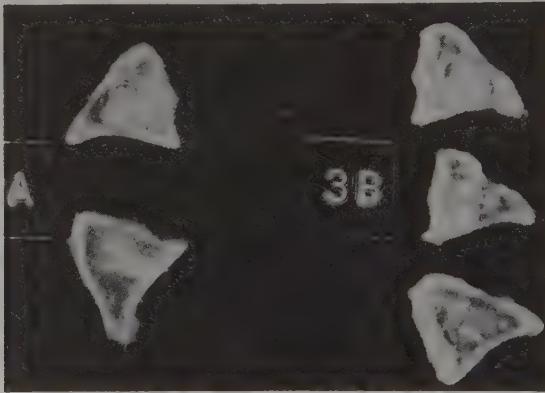


ABBILDUNG 1 a

Makroskopischer Befund der Knochenschnittfläche des Kaninchens nach Implantation von verschiedenen heterologen Implantaten:

- 3 A = Heterologes, denaturiertes Kollagen,
- 3 B = heterologer Kieler-Hartspan

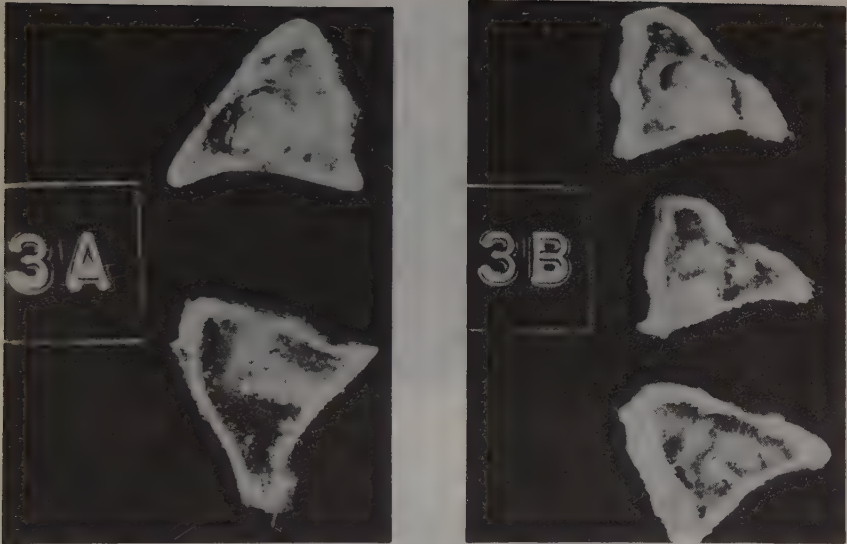


ABBILDUNG 1b + 1 c

Makroskopischer Befund in stärkerer Vergrößerung

Der makroskopische Unterschied zwischen den heterologen nativen und den heterologen, denaturierten Kollagen-Implantaten besteht darin, dass - 60 Tage nach Implantation - eine fortgeschrittene Bindegewebs- und Knochenneubildung im heterologen, denaturierten Kollagen-Implantat (K. S.), im heterologen, nativen Gel-Kollagen (G-K) aber nur im geringeren Ausmass festzustellen ist. In den übrigen heterologen nativen Kollagen-Implantaten ist die Bindegewebsbildung sehr gering, eine Knochenneubildung ist makroskopisch nicht zu diagnostizieren.

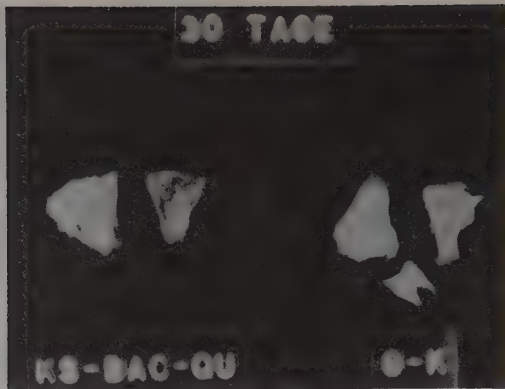


ABBILDUNG 2 a

Makroskopischer Befund, 30 Tage nach Implantation, von heterologen nativen Kollagen-Implantaten (G-K) im Vergleich zum heterologen, denaturierten Kollagen-Implantat + Bazitracin + Quarz (KS-BAC-QU)

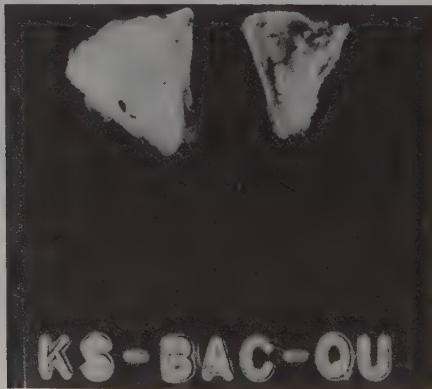


ABBILDUNG 2 b

Makroskopischer Befund in stärkerer Vergrößerung

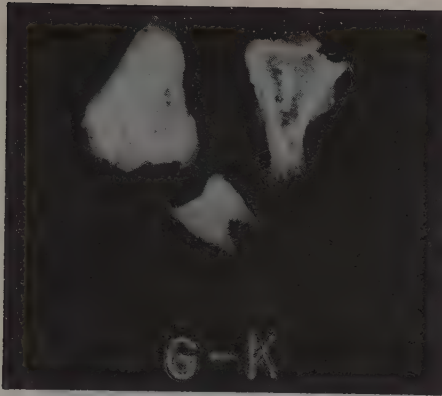


ABBILDUNG 2 c

Makroskopischer Befund in stärkerer Vergrößerung

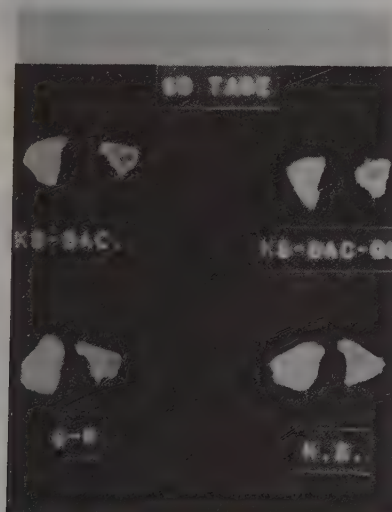


ABBILDUNG 3 a

Makroskopischer Befund, 60 Tage nach Implantation, von heterologem nativem Kollagen-Implantat (G-K) im Vergleich zum heterologen, denaturierten Kollagen-Implantat (K. S.), versetzt mit Bazitracin (KS-BAC) bzw. mit Bazitracin und Quarz (KS-BAC-QU)

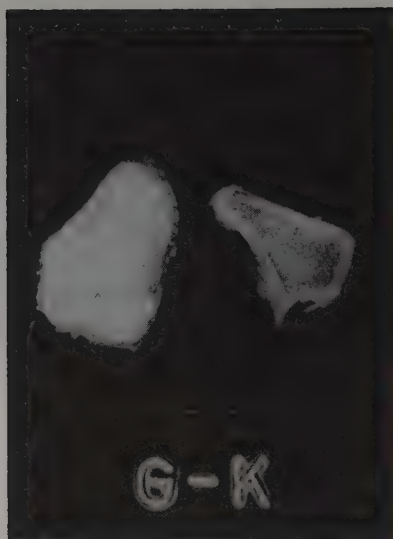


ABBILDUNG 3 b

Makroskopischer Befund in stärkerer Vergrößerung

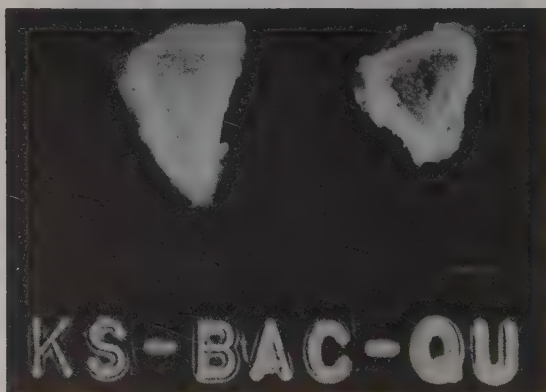


ABBILDUNG 3 c

Makroskopischer Befund in stärkerer Vergrößerung

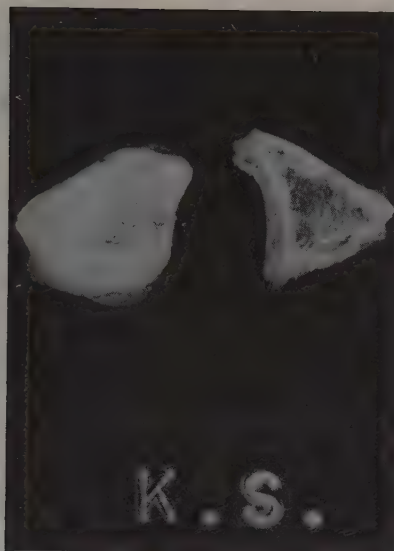


ABBILDUNG 3 d

Makroskopischer Befund in stärkerer Vergrößerung

bb) Röntgenuntersuchungen

Heterologe und autologe Knochenimplantate

Auf den vergleichenden Röntgenaufnahmen - 2 Wochen nach Implantation - ist die Stelle der Knochenaufmeisselung noch gut zu erkennen. Auffallend ist, dass die Knochenstruktur im Implantationsbereich des heterologen, denaturierten Kollagens homogen ist, während der Kieler-Hartspan im proximalen Schienbeinkopf noch deutlich zu erkennen ist. Im Bereich des implantierten Knochenmarks und der implantierten autologen Muskulatur sind ebenfalls keine wesentlichen Knochenveränderungen - die auf entzündliche Prozesse hinweisen würden - festzustellen.



ABBILDUNG 4 a + 4 b

Vergleichende Röntgenbilder von verschiedenen heterologen und autologen Implantaten in der Knochenhöhle, 2 Wochen nach Implantation. Heterologes, denaturiertes Kollagen - Heterologer Kieler-Hartspan - Autologes Knochenmark - Autologe Muskulatur

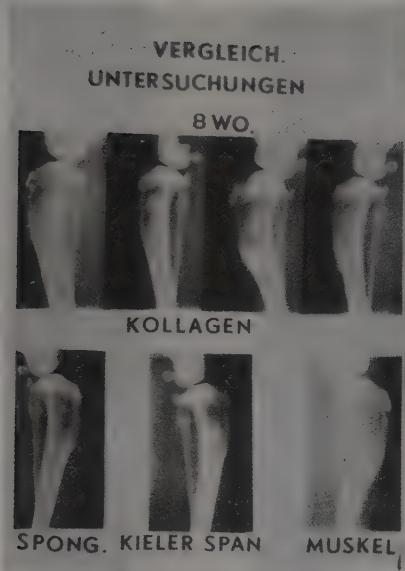


ABBILDUNG 5

Vergleichende Röntgenbilder, 8 Wochen nach Implantation

Weitere röntgenologische Untersuchungen - 4 Wochen nach Implantation - lassen im Bereich des implantierten heterologen, denaturierten Kollagens eine fleckige Knochenstruktur erkennen, während der Kieler-Hartspan weiterhin unverändert und scharf konturiert in der Markhöhle liegt. Die Knochenstruktur im Bereich des implantierten Knochenmarks und der autologen Muskulatur ist auch nach 4 Wochen noch unauffällig. 6 Wochen nach Implantation von autologem Knochenmark, autologer Muskulatur und heterologem, denaturiertem Kollagen sind stellenweise fleckige Knochenveränderungen nachzuweisen. Der Kieler-Hartspan ist weniger scharf konturiert und an den Rändern haben sich nur geringfügige Resorptionsveränderungen manifestiert. Diese Röntgenbefunde sind auch im grossen und ganzen 8 Wochen nach Implantation unverändert.

Nach 12 Wochen ist auf den Röntgenaufnahmen zu erkennen, dass das heterologe, denaturierte Kollagen vollkommen in die Knochenstruktur der Knochenhöhle mutuiert ist. Der Kieler-Hartspan lässt aber noch keine wesentlichen Resorptions- oder Umbauvorgänge erkennen, das autologe Knochenmark hingegen weist einen knöchernen

Einbau in die Knochenstruktur auf. Im Bereich der implantierten autologen Muskulatur zeigen sich im Gegensatz hierzu fleckige Strukturen, die entzündliche Knochenveränderungen vermuten lassen.

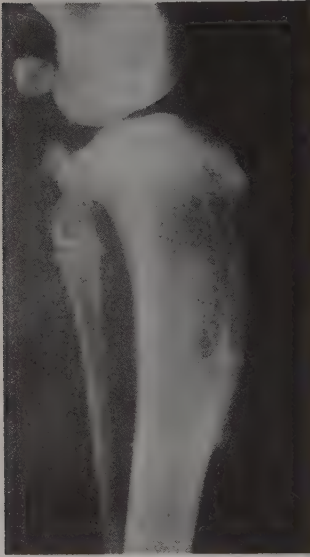


ABBILDUNG 6 a

Heterologes, denaturiertes
Kollagen



ABBILDUNG 6 b

Heterologer Kieler-Hartspan

Vergleichende Röntgenbilder verschiedener heterologer und autologer Implantate, 12 Wochen nach Implantation



ABBILDUNG 6 c

ABBILDUNG 6 d

Autologes Knochenmark

Autologe Muskulatur

Vergleichende Röntgenuntersuchungen verschiedener heterologer und autologer Implantate, 12 Wochen nach Implantation

Bei Versuchen mit heterologen, nativen Kollagen-Implantaten zeigen sich 2, 4, 6 bzw. 8 Wochen nach Implantation auf dem Röntgenbild erhebliche destruktive Knochenveränderungen mit zum Teil fleckigen Knochenzeichnungen. In manchen Fällen hat der zur Freilegung der Knochenhöhle ausgeschnittene Knochendeckel keinen knöchernen Anschluss mehr gefunden. Vereinzelt sind sehr deutliche Aufhellungen zu sehen, die den Eindruck von entzündlichen Knochenveränderungen erwecken. Es kann angenommen werden, dass für dieser erheblichen Knochendestruktionen eine Antigen-Antikörper-Reaktion verantwortlich ist, da die heterologen, nativen Kollagen-Implantate noch andere, antigen wirkende Gewebsproteine enthalten.

cc) Szintigraphische Untersuchungen

Mit Hilfe von radioaktiven Isotopen - die mit dem Blutstrom in das Knochengewebe eingeschleusst werden - können unverkalkte Osteoidsäume radioaktiv markiert werden. Auf diesem Wege sind alle Umbau- und Austauschvorgänge, und auch pathologische Knochenprozesse radioaktiv darzustellen. Bei diesem Teil der tierexperimentellen Untersuchungen waren wir bemüht, den Einbau von radioaktivem Strontium 87 in das neugebildete Knochengewebe, nach jeweiliger Implantation von heterologen oder autologen Implantaten, zu überprüfen. Hierzu wurde den Kaninchen etwa 1 bis 1,5 ml radioaktive Substanz - für die Menge des Isotopes war die jeweilige Aktivität des radioaktiven Strontium 87 bestimmend - in die Ohrvene injiziert. 45 Minuten später wurden vergleichsweise beide Tibien der Kaninchen untersucht. Die höchste Einbaurate an radioaktivem Strontium 87 zeigte - 56 Tage nach Implantation - das autolog übertragene Knochenmark, dem das heterologe, denaturierte Kollagen und in geringerem Masse die autologe Muskulatur und der heterologe Kieler-Hartspan folgen.

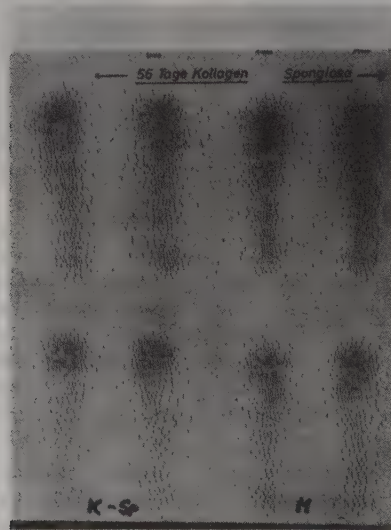


ABBILDUNG 7

Szintigramm, 54 Tage nach Implantation von heterologem, denaturiertem Kollagen, autologer Spongiosa, heterologem Kieler-Hartspan und autologer Muskulatur. Auf dem Szintigramm sind links die implantierten Stellen, rechts die normale Tibia.

dd) Bakteriologische Untersuchungen

Nach Ausschneiden einer Knochenscheibe unter gleichzeitiger Wasserkühlung wurde jeweils von der Markhöhle ein bakteriologischer Abstrich entnommen, wobei sich folgende Untersuchungsergebnisse ergaben:

- α) In der aseptischen Knochenhöhle (48 Kaninchen) betrug die Infektionsquote etwa 27 %. Hiervon entfallen auf das heterologe, denaturierte Kollagen 4,2 %, auf den heterologen Kieler-Hartspan 8,3 %, auf das autologe Knochenmark 2,0 % und auf die autologe Muskulatur 12,5 %.
- β) Bei einer zweimaligen operativen Eröffnung der Knochenhöhle, die bei 23 Kaninchen vorgenommen wurde, belief sich die Infektionsquote auf 26,7 %. In dieser Versuchsreihe wurde den autologen und heterologen Implantaten Antibiotica zugesetzt, wobei gleichzeitig auch die Verwendbarkeit der Blut-Antibioticum-Thrombin-Plombe überprüft wurde. Die Aufschlüsselung der Infektionsquote ergab folgendes Bild: Heterologes, denaturiertes Kollagen in Kombination mit einem Antibioticum: 4,4 %; autologes Knochenmark mit Antibioticum: 0 %; autologe Muskulatur mit Antibioticum: 4,4 %; Blut-Antibioticum-Thrombin-Plombe 13,0 %.
- γ) Die bakteriologischen Untersuchungen heterologer nativer Kollagen-Implantate in der aseptischen Knochenhöhle ergaben eine Infektionsquote von 75 %. Hiervon entfielen auf KS + Bacitracin: 15 %; KS + Bacitracin + Quarz: 25 %; G-K: 25 %; heterologes, denaturiertes Kollagen: 4,4 %.

ee) Histologische Untersuchungen

Zu diesen Untersuchungen wurden entkalkte, etwa 5 - 10 μ dicke Paraffinschnitte hergestellt. Einen Teil der Knochenschnitte liessen wir unentkalkt und betteten ihn in Metacrylat ein, um auf diese Weise die Knochenneubildung besser verifizieren zu können. Dabei war nach Implantation von autologen und heterologen Knochenimplantaten auffällig, dass eine mehr oder minder starke resorptive Entzündung zustande kommt und das Implantat von Granulocyten besie- delt wurde. Die schwächsten Reaktionen manifestierten sich bei der Übertragung von autologem Knochenmark. Diese entzündlichen Veränderungen erstreckten sich nur über einen Zeitraum von wenigen Tagen, so dass nach ungefähr 4-6 Tagen Histiocyten und Fi-

broblasten nachweisbar waren, die das autologe Knochenmark binnen 4 Wochen durchsetzten. Bereits nach 2 Wochen wurden an den Randstellen Ossifikationen sichtbar.

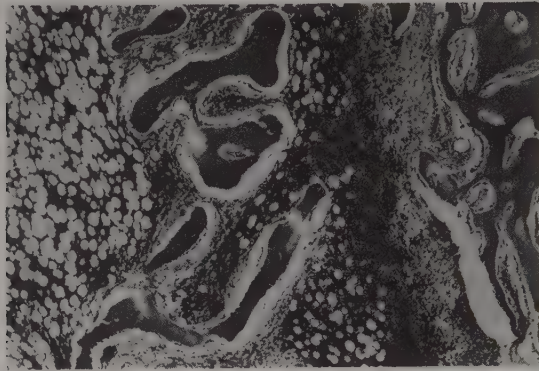


ABBILDUNG 8 a

Histologischer Schnitt - 2 Wochen nach Übertragung von autologer Spongiosa (v. Gieson-Färbung, Vergrößerung 25 x 10)

Das übertragene Knochenmark liegt reizlos in der Markhöhle, ist bindegewebig durchbaut und lässt zahlreiche neue Knochenbälkchen erkennen.

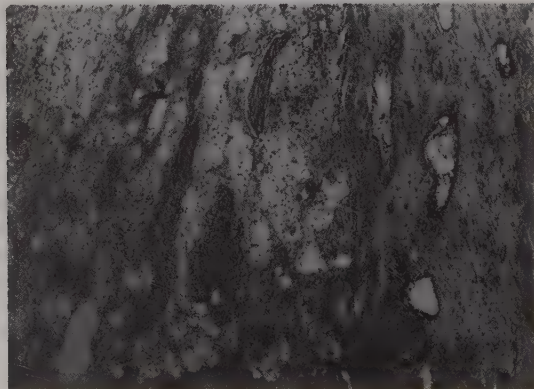


ABBILDUNG 8 b

Histologischer Schnitt - 4 Wochen nach Implantation von autologer Spongiosa

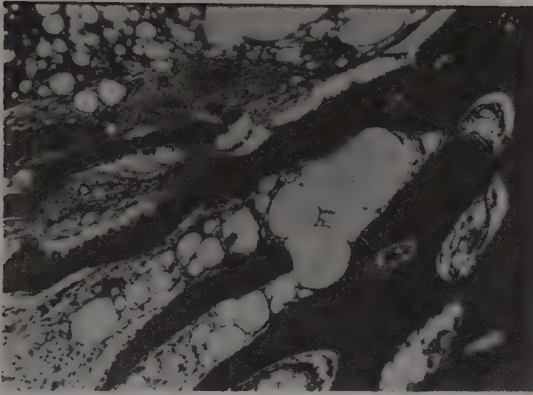


ABBILDUNG 9

Histologisches Bild - 8 Wochen nach Übertragung von autologer Spongiosa (HE-Färbung, Vergrößerung 40 x 10)

Dieses histologische Bild zeigt den Umbau der autologen Spongiosa, stellenweise mit Bindegewebsbildung, Fettgewebe und Neubildung von Knochengewebe

Die Granulationsgewebsbildung bei autologer Knochenmarks-Transplantation beginnt - so wie es wir in unseren Untersuchungen feststellen konnten - verhältnismässig schnell und innerhalb von 4-7 Tagen lassen sich Bindegewebszellen und einsprossende Kapillaren erkennen. Im Gegensatz hierzu weist die autologe Muskulatur - falls sie als Implantat in einer Knochenhöhle Verwendung findet - nur spärlich und an vereinzelter Stellen eine Bindegewebsneubildung und Ossifikation auf.

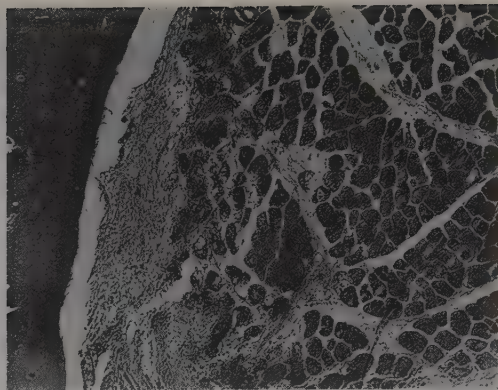


ABBILDUNG 10

Histologisches Bild - 2 Wochen nach Implantation autologer Muskulatur in die Tibiahöhle des Kaninchens (HE-Färbung, Vergrößerung 25 x 10)

Auf diesem histologischen Bild ist nur eine spärliche Granulationsgewebsbildung und Bindegewebsneubildung zu erkennen. In den Randpartien ist die eingelegte Muskulatur aufgelockert, degenerativ verändert und mit Granulozyten durchsetzt.

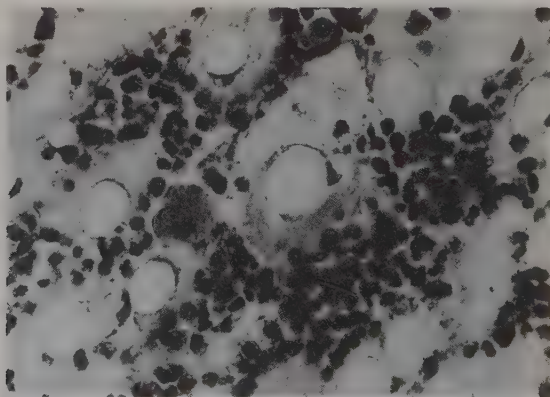


ABBILDUNG 11

12 Wochen nach Implantation von autologer Muskulatur in die Knochenhöhle (HE-Färbung, Vergrößerung 40 x 10) sieht man eine degenerativ veränderte Muskulatur mit dazwischengelagertem Fettgewebe, ohne Zeichen von Knochenneubildung. Das implantierte Muskelstück ist mit zahlreichen Granulozyten besetzt, d.h., im Implantat sind noch starke Gewebsreaktionen vorhanden.

Die stärksten und heftigsten Reaktionen im Rahmen der "resorptiven Entzündung" zeigen sich bei heterologen Knochen-Implantaten, hier vor allem, wenn diese Implantate nicht genügend gereinigt sind, d.h. wenn sie noch Fremdproteine enthalten, die unerwünschte Reaktionen hervorrufen. Bei der Verwendung des aus mazeriertem Kalbsknochen produzierten heterologen Kieler-Hartspan ist die Bindegewebs- und Knochenneubildung sehr gering, wie man aus folgenden Abbildungen leicht ersehen kann.

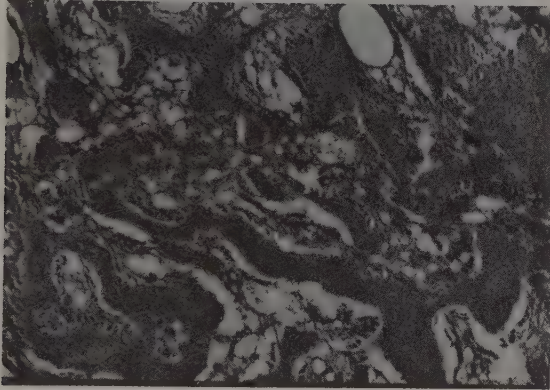


ABBILDUNG 12 a

Histologisches Bild - 4 Wochen nach Implantation eines Kieler-Hartspans

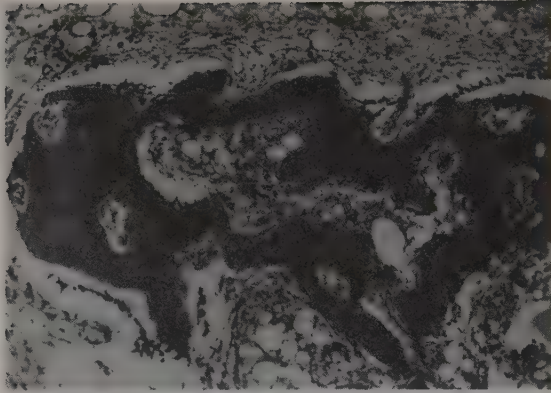


ABBILDUNG 12 b

Histologisches Bild - 8 Wochen nach Implantation eines heterologen Kieler-Hartspans (HE-Färbung, Vergrößerung 25 x 10)
 Dieses Bild zeigt, dass der Kieler-Hartspan noch nicht umgebaut bzw. resorbiert ist. Stellenweise ist die knochenharte Kontur des Spans vermutlich von Osteoklasten angenagt. In der Umgebung ist eine Bindegewebsbildung festzustellen, die offenbar das Implantat umschliesst und abkapselt. Eine Knochenneubildung ist im histologischen Schnitt nirgends zu erkennen.

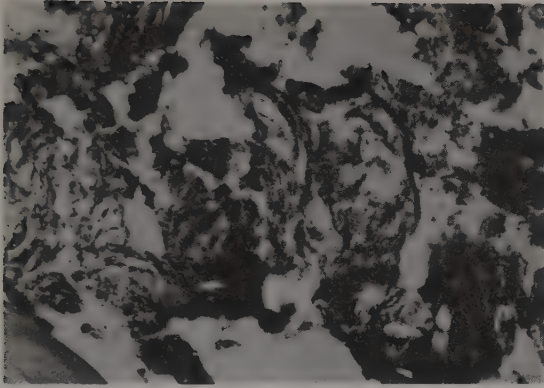


ABBILDUNG 13

Histologisches Bild - 12 Wochen nach Anwendung der heterologen Kieler Spongiosa (HE-Färbung, Vergrößerung 25 x 10)

Auf diesem Bild sind die Bruchstücke der Kieler Spongiosa gut zu erkennen. Nur stellenweise sind die Konturen unterbrochen. Hier könnte der Umbau beginnen. In der Umgebung ist eine Bindegewebsneubildung zu verifizieren. Regelrechte Ossifikationen sind aber nicht festzustellen.

Aufgrund der bei den Vorversuchen an Ratten gewonnenen Erfahrung stand fest, dass im heterologen, denaturierten Kollagen eine schnelle Bindegewebsneubildung vollzogen wird. Im Kollagen-Implantat beginnt bereits in den ersten beiden Tagen die Immigration von Granulocyten. Durch die Fermente der Makro- und Mikrophagen wird das Kollagen-Gerüst des Implantates aufgespalten. Gleichzeitig wandern ortsständige Histiozyten und Fibroblasten ein, die in dem in Auflösung befindlichen Kollagen-Implantat ein geeignetes Klettergerüst für den Aufbau der neuen Bindegewebssubstanz vorfinden. Schon nach 8 Tagen sind im Kollagen-Implantat neugebildete Kapillaren vorhanden und die Fibroblasten und Histiozyten haben an Qualität erheblich zugenommen. 4 Wochen nach der Implantation sind zwar noch Fasern des Kollagen-Gerüsts zu finden, die aber durch die Makro- und Mikrophagen weiter abgebaut und schließlich aufgelöst werden.

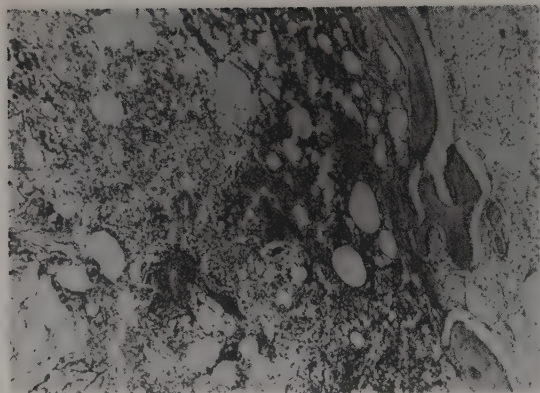


ABBILDUNG 14

Histologisches Bild - 4 Wochen nach Implantation von heterologem, denaturiertem Kollagen in die Knochenhöhle der Tibia des Kaninchens (HE-Färbung, Vergrößerung 40 x 10)

Auf diesem Bild sind nur mehr wenige Fasern des heterologen Kollagen-Gerüsts vorhanden. Daneben sieht man reichlich Mikro- und Makrophagen, durch deren proteolytische Fermente das poröse Fasergerüst weiter abgebaut wird. Von der Peripherie her (unterer Rand des Bildes) ist die Bindegewebsneubildung schon erkennbar.

4) AUSWERTUNG UND ZUSAMMENFASSUNG

EIGENER TIEREXPERIMENTELLER UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE UNTER BERÜCKSICHTIGUNG DER EINSCHLÄGIGEN LITERATUR

Bisher war es nicht bekannt, wie sich heterologes, denaturiertes Kollagen als Implantat im Knochen zur Auffüllung von aseptischen Knochenhöhlen verhält. So konnten wir bei den hier durchgeführten tierexperimentellen Untersuchungen folgende Beobachtungen machen:

- 1) Bei den an Ratten vorgenommenen Vorversuchen heilten alle heterologen, denaturierten und heterologen nativen Kollagen-Implantate reizlos im Subkutangewebe ein. Im Weichteillager kommt es demzufolge zu einer schnellen Bindegewebsneubildung, wobei offensichtlich ortsständige Fibroblasten und Histiozyten in den Implantaten ein geeignetes Klettergerüst vorfinden. Es fiel dabei auf, dass im Weichteilgewebe die Bindegewebsneubildung keine signifikanten Unterschiede

de aufweist, ganz gleich, ob heterologes, denaturiertes oder heterologes natives Kollagen als Implantationsmaterial angewandt wurde. Hinzu kommt noch, dass weder das Ausgangsmaterial der Implantate, die strukturelle Beschaffenheit noch der Gerbungszustand von ausschlaggebender Bedeutung waren.

- 2) In der Knochenhöhle treffen diese Aussagen nicht zu. Hier waren die Ergebnisse völlig anders. In dieser Versuchsreihe manifestierte sich im Vergleich der verschiedenen Kollagen-Implantate ein wesentlicher Unterschied sowohl in der Bindegewebs- als auch in der Knochenneubildung. Im Rahmen einer "resorptiven Entzündung" (HAMPERL u. LUHR, ROGGATZ, UEHLINGER) wird nämlich das hochporöse, denaturierte Kollagen-Implantat auch in der Knochenhöhle durch Makro- und Mikrophagen allgemein aufgespalten, wobei gleichzeitig dem einsprossenden Granulationsgewebe ein geeignetes Leitgerüst geboten wird. Durch diesen Vorgang wird erfreulicherweise die Bindegewebs- und Knochenneubildung wesentlich acceleriert, die zur raschen reparativen Defektfüllung einer Knochenhöhle äusserst erwünscht ist. Hierbei muss darauf hingewiesen werden, dass diese Befunde ausschliesslich für das heterologe, denaturierte Kollagen-Implantat gelten, während das heterologe native Kollagen-Implantat die Anforderungen in der aseptischen Knochenhöhle nicht erfüllt.

Das heterologe native Kollagen-Implantat besteht aus feinen Fibrillen-Fäden mit noch nicht abgebautem, nativem Kollagen. Wie bereits vorher beschrieben, ergab sich bei der Verwendung dieses Implantations-Materials bei den tierexperimentellen Untersuchungen eine überraschend hohe Infektionsquote, die wohl als Folge einer spezifischen Antigen-Antikörper-Reaktion angesehen werden kann, die letztlich auf die Struktur und Konsistenz des Materials, d.h. auf die Beimengung von Fremdproteinen zurückzuführen ist. Einige namhafte Bindegewebsforscher (HARKNESS, LESON, HARTMANN, LINDNER u. a.) haben nämlich im tierischen und menschlichen Bindegewebe verschiedene Eiweisstypen gefunden. Dabei handelt es sich im einzelnen um die Eiweisse, die mit den Mukopolysacchariden verbunden sind, ferner um diejenigen, die in das Bindegewebe auf physiologischer Basis einströmen, nämlich die Serumproteine, und schliesslich um zwei Gruppen von nicht-kollagenen Eiweissen sowie um die verschiedenen Typen von Kollagen-Eiweissen. Alle diese sogenannten Fremdproteine sind aber beim heterologen, denaturierten Kollagen-Implantat eliminiert, d.h., hier liegt nur ein reines Kollagen-Gerüst vor. Die bei unseren eigenen tierexperimentellen Untersuchungen durchgeführten immunologischen Studien (K. KÜHN und Mitarbeiter) ergaben, allerdings ausschliesslich nach Implantation von heterologem,

denaturiertem Kollagen, keine nachweisbaren Kollagen-Antikörper im Serum.

- 3) Ein nächster Unterschied zwischen heterologen, denaturierten und heterologen nativen Kollagen-Implantaten existiert im Ausgangsmaterial dieser Stoffe. Das bei diesen tierexperimentellen Untersuchungen benützte heterologe, denaturierte Kollagen-Implantat wurde aus Schweinehaut hergestellt. HARDINS aber konnte gerade bei Hauttransplantationen nachweisen, dass die Nekrose der Hauttransplantate durch die Aktivierung der proteolytischen Enzyme der Haut initiiert wird, was wiederum eine Folge der Antigen-Antikörper-Reaktion ist. Andererseits explorierte SEXSMITH, dass gerade der proteolytische Enzymgehalt der Haut ausgewachsener Schweine der niedrigste aller bekannten Tierhäute überhaupt und weitaus geringer als der Enzymgehalt menschlicher Haut ist.
- 4) Für alle anderen autologen und heterologen Implantate, die wir tierexperimentell auf ihre Verwendbarkeit hin überprüft haben, ist die Gewebsspezifität und die Konsistenz des Lagers, in das die Implantate eingebettet werden, von grösster Wichtigkeit. Die Immigration von Ernährungsstoffen und der zellige Einbau in das Implantat haben für den Um- und Einbau entscheidende Bedeutung. Unterschiede in der Transplantation arteigener und artfremder Gewebe basieren primär auf den Ernährungsschwierigkeiten des Implantates (UEHLINGER, THIERSCH, SCHOENE). Durch spezifische Gewebssäfte mit mangelnder Assimilation der körperfremden Eiweissubstanz, mit toxischen Wirkungen der Gewebssäfte auf das Implantat und reziprok im Implantat auf das artfremde Gewebe kommt es durch Allergisieren zu Immunitätsreaktionen nach Resorption von Fremdeiweiss des Implantates. Daher wurde als wichtigstes biologisches Gesetz postuliert, dass nur körpereigenes Knochengewebe unter permanenter Erhaltung der Zellvitalität die Transplantation überstehen kann.

Diese Aussage ist für das autologe Implantat insofern von Wichtigkeit und Bedeutung, dass bei technisch korrektem Vorgehen osteogenetische Potenzen übertragen werden, d. h., dass die Zellen imstande sind zu überleben. Im Gegensatz hierzu sind bei homoiologen Implantaten die Zellen nur kurze Zeit befähigt weiterzuleben, bis sie auf Grund spezifischer Contra-Reaktionen absterben. Diese Zeitspanne ist noch kürzer beim heterologen Implantat, wobei dieser durch Unverträglichkeitsreaktionen ausgelöste Vorgang, der mehr oder minder schnell abläuft, sowohl biologisch als auch histologisch einen Misserfolg darstellt. Diese aus dem "in vitro-Versuch" stammenden und hier als Misserfolg angesehenen Ergebnisse müssen aber im klinischen Sinne völlig anders gedeutet werden. Bereits LEXER

hat nachgewiesen, dass das langsam absterbende Gewebe von einer entsprechenden Gewebsneubildung, die entweder vom Knochenlager oder vom überlebenden Rest des Implantates stimuliert wird, kompensiert wird. Das ist aber nur möglich, wenn Regeneration und Abbau gleich schnell erfolgen. Dies ist beim heterologen, denaturierten Kollagen-Implantat von grösster Wichtigkeit. Deswegen wurde versucht, durch Versetzung des Kollagen-Implantats mit einem geeigneten Gerbmittel günstig auf den Abbau einzuwirken, ein Versuch, der sich in der Praxis als geglückt erwiesen hat.

- 5) So kann auf Grund der eigenen tierexperimentellen Untersuchungen, unter Berücksichtigung der speziellen Literatur, zusammenfassend folgendes gesagt werden:
 - a) Für die Transplantation autologer, homoologer und heterologer Knochen-Implantate ist wichtig, die Spezifität des vorhandenen Implantations-Lagers zu beachten. Hierbei ist zu differenzieren zwischen ersatzunfähigem (Weichteile), ersatzschwachem (periostloser Knochendefekt grösseren Ausmasses) und ersatzstarkem Knochenlager (W. AXHAUSEN, LEXER, MAATZ, PHEMISTER u. a.). Auf Grund der Ergebnisse der eigenen tierexperimentellen Untersuchungen kann der Schluss gezogen werden, dass sich im ersatzschwachen Lager die Übertragung von autologer Spongiosa und von heterologem, denaturiertem Kollagen unter Hinzufügen eines Antibioticums am besten bewährt hat. Im ersatzstarken Knochenlager, wie es die nicht zu stark geschädigte aseptische Knochenhöhle darstellt, ist dagegen jedes andere Implantationsmaterial, auch der heterologe Kieler-Hartspan und die heterologe Kieler-Spongiosa, sowie die autologe Muskulatur, als Implantations-Material geeignet.
 - b) Auf Grund der in der Knochenhöhle des Kaninchens gemachten Erkenntnis, dass das heterologe, denaturierte Kollagen als Implantat die Bindegewebs- und Knochenneubildung stimuliert, kann dieses Kollagen-Implantat für klinische Zwecke als geeignet empfohlen werden.
 - c) Das heterologe, native Kollagen-Implantat muss wegen der hohen Infektionsquote, die offenbar durch die Antigen-Antikörper-Reaktion hervorgerufen wird, als Füllmaterial in der aseptischen Knochenhöhle als unbrauchbar angesehen werden.

II) ZUR KLINIK DER ASEPTISCHEN KNOCHENHÖHLE

Unter aseptischer Knochenhöhle versteht man in erster Linie die Knochenhöhle, die nach operativer Exstirpation eines benignen Knochentumors, nach operativer Ausschälung einer gutartigen Knochencyste oder nach Auslöffelfung von Spongiosa-Gewebe, das anschliessend als autologes Implantat zur Füllung eines anderen Knochendefektes verwendet wird, entsteht.

1) AUTOLOGE UND HETEROLOGE SUBSTANZEN ZUR AUFFÜLLUNG DER ASEPTISCHEN KNOCHENHÖHLE

Zahlreiche in- und ausländische Autoren (G. AXHAUSEN, W. AXHAUSEN, BARTH, RASCHKERZEW u. PETROW, BIER, BLOCK, ENGSTRÖM, INSTAHLER, LEXER, WITT u. a.) haben beschrieben, dass die Knochenregeneration bei Anwendung von solchen Substanzen in zwei osteogenetischen Phasen abläuft, von denen unter physiologischen Verhältnissen die erste Phase, von präexistenten, spezifischen Zellen ausgehend, die primäre Rolle spielt und die zweite, unspezifische Phase weitgehend überdeckt.

Überträgt man diese Aussage auf die verschiedenen Knochen-Implantate oder Transplantate, so bedeutet dies, dass bei der Autoplastik, d. h. bei der Implantation eines autologen Knochenstückes in ein ersatzstarkes Knochenlager, die Einheilung rasch und ohne auffällige Reaktion abläuft. Die erste osteogenetische Phase beginnt damit, dass kurz nach der Einpflanzung gefässführende Gewebsprozesse in allen Knochenkanälchen vorhanden sind, wodurch das Knochentransplantat allmählich ein Bestandteil des Körpers wird. Wurden mit diesem autologen Knochenspan gleichzeitig Periost oder Knochenmark mit übertragen, so kommt es sehr schnell zur Knochenneubildung, da die spezifischen knochenbildungsfähigen Zellen dieses Transplantat-Weichgewebe überleben, proliferieren und mit dem Knochenneubau beginnen. Mit diesem Prozess verbunden ist der Umbau der Knochenhartsubstanz des Transplantates. Es ist bekannt, dass im ersatzstarken Knochenlager das Implantat die eigene Osteogenese anregt, weswegen im knöchernen Lager, wo dazu noch das knochenbildungsfähige Gewebe des Lagers selbst aktiv mitwirkt, auch massive Knochenspäne schnell resorbiert werden können.

MATTI hat als erster die Spongiosaübertragung zur Stimulation der Knochenbildung empfohlen. Vorteilhaft erweist sich die Spongiosa-Implantation vor allem in infizierter Umgebung, da sie sich hier sehr widerstandsfähig zeigt, während die corticalen Knochenspäne nur unter völlig aseptischen Massnahmen im Implantationsbett einheilen.

Wie von GALLIE beschrieben wurde, bewirken die zerkleinerten Spongiosa-Transplantate eine sehr gute Osteogenese, die durch die ständig zunehmende Zahl von Zellen, die in direkter Verbindung zum Blut- und Lymphkreislauf stehen und dadurch existenzfähig bleiben. Hinzu kommt, dass die Blutgefäße des umgebenden Proliferationsgewebes leicht in das Spongiosa-Transplantat eindringen und somit eine ausreichende Versorgung desselben garantieren. SEGMÜLLER hat anhand zahlreicher Versuche in der Mikroporekammer bewiesen, dass bei der autologen Spongiosa-Übertragung die überlebenden Markzellen am osteogenen Prozess mitwirken. Es darf nicht übersehen werden, dass auch bei der autologen Spongiosa-Transplantation ein gut vaskularisiertes Knochenlager vorhanden sein muss. SCHWEIBERER, HOFMEIER und MÜLLER haben herausgefunden, dass die sogenannte harte Knochensubstanz, worunter man den Knochen mit seinen Osteozyten versteht, auch bei autologer Transplantation abstirbt und durch lebendes Knochengewebe ersetzt wird. Um dieser Tatsache vorzubeugen, wurde jahrelang zur Defektfüllung im Knochen autologe Spongiosa benützt. Im Vergleich zum autoplastischen Implantat verläuft die Einheilung homoioplastischer Implantate unterschiedlich, wie tierexperimentelle und klinische Untersuchungen gezeigt haben. Diese Unterschiede kann man sowohl im ersatzschwachen, als auch im ersatzstarken Knochenlager feststellen (W. AXHAUSEN). Auffallend ist, neben der stärkeren zellulären Reaktion des Lager-Bindegewebes, dass bei Übertragung eines frischen homoioplastischen Implantates eine Knochenneubildung, hervorgerufen durch überlebende Zellen, nicht zu verifizieren ist. Vielmehr kommt es zu einer völlig atypischen unreifen Gewebsneubildung ähnlich einem Osteoid, was aber nicht als solches bezeichnet werden kann. Im Gegensatz zur autologen Transplantation überleben im homoioplastischen Implantat die osteogenetischen Zellen nicht. So hat sich gezeigt, dass beim kältekonserverten, homoioplastischen Knochenimplantat die erste osteogenetische Phase entfällt, da durch die Konservierungskälte die knochenbildungsfähigen Zellen ihre Funktionsfähigkeit verloren haben. Ausserdem wird der homoiolog transplantierte Knochen meistens resorbiert, wie W. AXHAUSEN beschrieben hat. Die zweite osteogenetische Phase wird vom Weichteillager initiiert. Die körpereigenen Osteoblasten produzieren hierbei zwar quantitativ wenig, aber biologisch vollwertiges Knochengewebe. Es wurde festgestellt, dass sogar im ersatzstarken Knochenlager die Umbaugeschwindigkeit des homoiolog transplantierten

Knochens, verglichen mit den autoplastischen Implantaten, weitaus geringer ist.

KYSELKA hat bei tierexperimentellen Untersuchungen im Humerus an Schäferhunden mit Rinder- und Kalbsknochentransplantaten herausgefunden, dass eine Woche nach Implantation peri- und endostale Fibrinverklebungen sowie Gefäßbindegewebsneubildungen vorhanden waren. Obwohl nach 16 Wochen der Knochenumbau weitgehend vorangeschritten war, werden dennoch Jahre bis zum endgültigen Einbau des Spanes benötigt. EHALT benützte bei 116 Frakturen, Pseudarthrosen und Arthrodesen den Bankknochen. Bei 88,2 % der Fälle war das Ergebnis zufriedenstellend, in 7,3 % wurde der Bankspan teilweise resorbiert und in 4,5 % kam es zur völligen Resorption oder Infektion.

Als nächste Implantationsmöglichkeit ein kurzer Abriss über die Heteroplastik. Hier wirft sich die Frage auf, ob dem heterologen Knochen eine osteogenetische Potenz vor allem in der zweiten osteogenetischen Phase, zugerechnet werden kann. W. AXHAUSEN ist der Auffassung, zwischen dem heteroplastischen Knochenmaterial einerseits und autolog bzw. homoiolog übertragenem Knochenimplantat auf der anderen Seite existiere ein gravierender Unterschied. Das heterologe Implantat nämlich provoziert eine enorme Gewebsreaktion des Lagers mit einer ausgeprägten Zellinfiltration, die dem Bild einer eingetretenen Infektion sehr ähnlich ist. Wie genauere Untersuchungen ergeben haben, handelt es sich hierbei jedoch nur um rundzellige Infiltrationen, während andererseits an vielen Stellen bereits neue Fasern gebildet worden sind. Im Gegensatz zu den anderen Implantationsmaterialien führt das heterologe Knochenimplantat aufgrund der Artspezifität des Gewebes im artfremden Gewebsumfeld zu einer erheblichen Gewebsreaktion, wodurch die Einbau- bzw. Einheilungsvorgänge stark verlangsamt werden. Es hat sich gezeigt, dass Implantate dieser Art nicht imstande sind, eine typische Knochenneubildung, d.h. die 1. osteogenetische Phase, zu induzieren. Bei den von uns durchgeführten tierexperimentellen Untersuchungen konnten wir nach Anwendung des heterologen Kieler Hartspans und der heterologen Kieler Spongiosa auch die 2. osteogenetische Phase nicht beobachten.

Wird das heteroplastische Knochenimplantat in ein Weichteillager eingebracht, so verhält es sich wie ein resorbierbarer Fremdkörper (W. AXHAUSEN, J. BÖHLER, EHALT u.a.), unter anfangs heftigen Reaktionen des Lagerbindegewebes heilt das heteroplastische Knochenimplantat langsam ein, wird zunächst bindegewebig eingeschleitet und schließlich resorbiert. Bei diesem Vorgang sind keine osteogenetischen Potenzen festzustellen.

Einige Autoren haben aufgrund mannigfacher Untersuchungen dem heterologen Kieler-Hartspan und der heterologen Kieler Spongiosa die Eigenschaft als Calluslocker abgesprochen. SCHWEIBERER, HOFMEIER und MÜLLER war es nicht möglich, nach Implantation des Kieler-Hartspans in die Bauchmuskulatur nach 12 Wochen eine Knochenneubildung zu verifizieren. Auch hier konnte man nach einer bindegewebigen Abkapselung die Resorption des Implantates konstatieren.

Bei Implantation von mazerierten Kieler Spongiosa-Blöcken in den Tibiakopf mussten die gleichen Autoren erkennen, dass auch hier kein callusbildender Effekt zustande kommt. KONDRAI und TARSOLY konnten anhand tierexperimenteller Versuche an Hunden bestätigen, dass der Einbau des Knochen-Implantates um so schneller und besser vor sich geht, je kleiner es ist und je grösser die mit ihm in Verbindung stehende Oberfläche des Empfänger-Organes ist. Unter Verwendung der Kompakta des Kieler-Hartspans aber ist das Implantat nach 2 Wochen bindegewebig eingeschleitet und nach 4 Wochen bereits abgestossen. Präpariert man den Kieler-Hartspan jedoch vor, indem man ihn an einigen Stellen aufbohrt, so beginnen nach 2 Wochen Knochenbälkchen in die Bohrlöcher einzuwandern. Durch diesen Vorgang ist nach 4 Wochen eine enge Verbindung zwischen Implantat und Umgebung entstanden.

Vielleicht grösste Aussagekraft über die Wertigkeit von Kieler-Knochen und Ossar als Transplantationsmaterial besitzen die von EVERS u. Mitarbeitern an Hunden und 1000 Patienten vorgenommenen Untersuchungen. Hiernach zeigte der sehr eiweiss- bzw. kollagenreiche (7 % Anteil) Kieler-Knochen aus Kalbs- oder Rinderknochen eine gute mechanische Festigkeit und eine bessere osteogene Potenz als der Finnische Knochen. Dieser ist völlig eiweiss frei, besitzt wegen seiner brüchigen anorganischen Knochensubstanz eine geringe Festigkeit und histologisch nur eine schwache osteogene Potenz im Empfängerknochen. JANECEK hat die biologische Aktivität des Knochenspanes im ersatzschwachen Lager geprüft, indem er das Implantat mit p^{32} markiert hat. 35 Tage nach Implantation verlor der Span langsam seine Aktivität, was als Umbau gedeutet wurde.

2) ZUR KLINIK DER AUTOLOGEN UND HETEROLOGEN KNOCHENIMPLANTATE

Die hier vorgestellten Fälle stammen alle aus der Chirurgischen Klinik der Universität München. Sie sollen repräsentativ sein für das Krankengut, das in der Zeitspanne von 1960 bis 1969 in diesem Hause operativ versorgt worden ist.

Ein Krankheitsfall, bei dem ein autologer Tibia-Span zur Auffüllung der Defekthöhle verwendet wurde.

Patient H. H., 8 Jahre alt.

Diagnose: Tumor im Bereich des linken Oberarmes, der sich vom Humeruskopf bis in das mittlere Drittel des Schaftes erstreckt.

Nach Ausräumung des Tumors mit teilweiser Resektion des Humeruskopfes wurde der Defektbereich mit einem aus der rechten Tibia entnommenen Span ausgefüllt.

Röntgenologischer Befund 11 Monate nach der Operation:

"Zustand nach Tibiaspanholzung in den z. T. resezierten Humeruskopf und in das mittlere Drittel des Humerusschaftes. Nach den Aufnahmen ist eine völlige Einheilung des implantierten Knochenstückes bereits erfolgt. Die Bewegung des Humeruskopfes erscheint den Aufnahmen nach gut. Kleinere zystische Degenerationsherde finden sich noch im cranialen Anteil des implantierten Tibiaspanes, jetzt zum Humeruskopf gehörend. Reste einer Callusbrücke an peripherer Implantationsstelle, lateral und dorsal der Tibia- respektive Humeruskante."

Röntgenologischer Befund 16 Monate post operationem:

"Man erkennt einen im oberen Anteil deutlich in Bezug auf die Corticalis verdickten Humerusschaft, an dessen lateralem Anteil exostosenartig eine knöcherne Nase in die Weichteile zu verfolgen ist. Der Humeruskopf selbst erscheint deformiert, die Epiphysenfuge ist nur noch angedeutet zu sehen. Im Bereich des Tuberculum majus imponiert auf der a.-p. Aufnahme ein zapfenartig in die Deltoideus-Muskulatur hineinragender Knochenfortsatz. Die Corticalis im oberen Schaftdrittel ist nicht glatt durchziehend, sondern vielmehr randusuriert. Zeichen eines Rezidivs finden sich nicht."

Ein Krankheitsfall, bei dem autologe Spongiosa aus dem Beckenkamm als Implantationsmaterial Verwendung fand.

Patient H. N., 71 Jahre alt.

Diagnose: Enchondrom im Mittelglied von D IV rechts. Anamnestisch

war von dem Patienten in Erfahrung zu bringen, dass beim Kartenspielen durch Aufschlagen der rechten Hand auf die Tischplatte eine Spontanfraktur eintrat.

Nach operativer Entfernung des Enchondroms wurde die Fraktur mittels einer Spongiosa-Plastik primär versorgt.

Röntgenbefund 7 Jahre danach:

"Zustand nach Schaftfraktur des Mittelgliedes von D IV rechts. Ventral-seits ist in bauchiger Auswölbung eine deutliche periostale Callusreaktion festzustellen. Konturen des Spongiosa-Implantates sind nicht mehr zu erkennen, der Umbau des Implantates ist somit abgeschlossen. Es herrschen achsengerechte Gelenksverhältnisse."

Der Patient ist mit dem Heilergebnis völlig zufrieden, eine Funktionsbeeinträchtigung ist nicht vorhanden.

Ein Krankheitsfall, bei dem heterologer Kieler-Knochenspan Verwendung fand:

Patient V. F., 61 Jahre alt

Diagnose: Mehrfache Oberschenkelfraktur rechts nach Verkehrsunfall.

Die Fraktur wurde mittels eines Herzog-Nagels operativ versorgt, als Implantationsmaterial wurde heterologer Kieler-Knochenspan benutzt.

Röntgenologischer Befund 6 Jahre post operationem:

"Zustand nach Femurfraktur in Schaftmitte, Zustand nach Versorgung mit Herzog-Nagel. Knöchern fest ausgeheilte Bruch mit deutlicher endostaler Callusreaktion und vor allen Dingen Callusbildung in Form von kolbiger Auftreibung. Der Nagel kann entfernt werden. Arthrotische Veränderungen im Bereich des rechten Hüftgelenkes im Sinne einer beginnenden Coxarthrose. Strukturen des Implantates sind noch deutlich zu erkennen."

Der Patient zeigt sich mit dem Operationsergebnis nicht zufrieden. Das rechte Bein ist um 5 cm verkürzt, ausserdem ist die Funktionsfähigkeit erheblich eingeschränkt.

Ein Krankheitsfall, bei dem heterologes, denaturiertes Kollagen in der aseptischen Knochenhöhle verwendet wurde.

Patient P. N., 18 Jahre alt

Diagnose: Juvenile Knochencyste im proximalen Oberarmdrittel rechts mit beginnender Spontanfraktur.

Nach operativer Ausräumung der Knochencyste erfolgte Auffüllung der Knochenhöhle mit heterologem, denaturiertem Kollagen und anschließend die Stabilisierung der Fragmente mit einer AO-Löffelplatte. Nach einem komplikationslosem Heilverlauf mit primärer Wundheilung wurde der Patient 14 Tage post operationem entlassen.

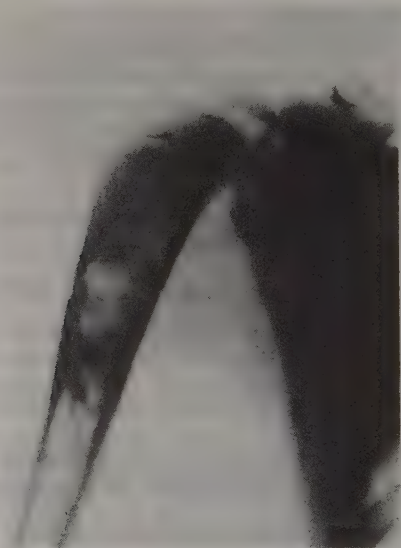


ABBILDUNG 15 a
Juvenile Knochencyste

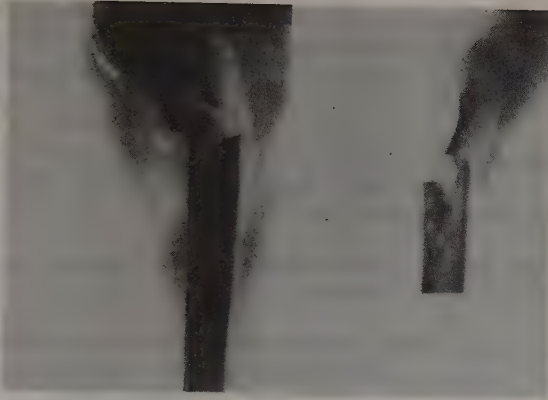


ABBILDUNG 15 b

Gleiche Knochencyste mit Spontanfraktur

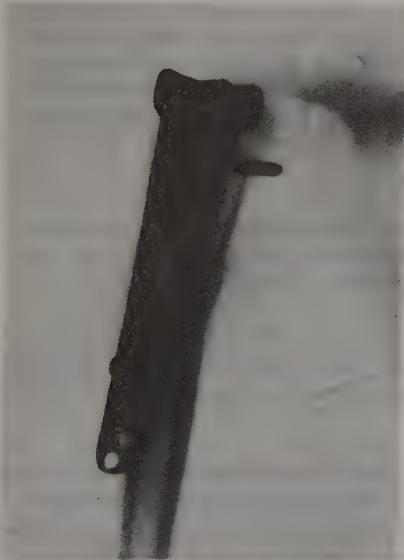


ABBILDUNG 15 c

Zustand 10 Monate nach der Operation. Die Fraktur ist in achsen-gerechter Stellung knöchern fest verheilt (BKS 3/6, Leuko: 5200)

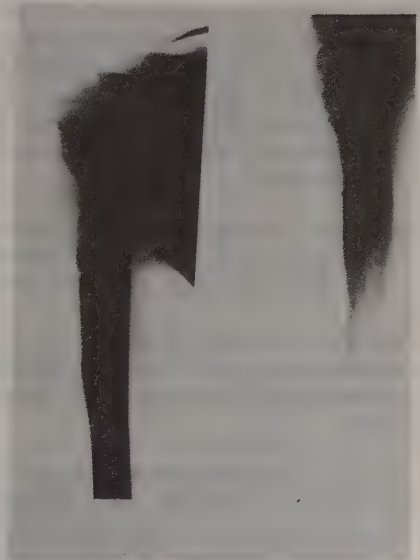


ABBILDUNG 15 d

Zustand 2 Jahre nach der Operation und 3 Wochen nach der Plattenentfernung

Aufgrund der durchgeführten tierexperimentellen und klinischen Untersuchungen gelten für die Anwendung des heterologen, denaturierten Kollagen-Implantates in der aseptischen Knochenhöhle folgende Erfahrungen:

1. Durch gewissenhafte Nekrotomie bei tumorösen oder cystischen Prozessen in der aseptischen Knochenhöhle sollte es möglich sein, ein ersatzstarkes Knochenlager zu schaffen.
2. Die gereinigte Knochenhöhle sollte mit einem geeigneten Füllmaterial restlos ausgefüllt werden.
3. Für grosse Knochenhöhlen stellt das strukturgebundene heterologe, denaturierte Kollagen-Implantat ein geeignetes Füllmaterial dar, das immer und in nötiger Quantität zur Verfügung steht.
4. In der aseptischen Knochenhöhle ist mit der Kollagen-Implantation die lokale Antibioticum-Applikation zur Infektionsprophylaxe zu empfehlen.
5. Das Kollagen-Implantat wird proteolytisch abgebaut und gleichzeitig dient es dem einsprossenden Granulationsgewebe wegen seiner Porosität als eine Art Leitschiene. Dadurch wird auch in der Knochenhöhle die rasche Granulationsgewebsbildung, die Bindegewebsneubildung und die Knochenneubildung durch Osteoblasten günstig beeinflusst.
6. Nach Auffüllung mit dem heterologen, denaturierten Kollagen-Implantat sollte der primäre Wundverschluss gewährleistet sein, um einer eventuellen exogenen Mischinfektion vorzubeugen.

Bei allen diesen Vorteilen, die das heterologe, denaturierte Kollagen-Implantat zu bieten vermag, sollen aber auch seine Nachteile, die sich bei unseren Untersuchungen herausgestellt haben, nicht übersehen werden:

1. Auch die vorhandene Porosität, die das einsprossende Granulationsgewebe begünstigt, und der günstige Gerbungszustand verhindern nicht, dass bei einer bakteriellen Infektion das heterologe, denaturierte Kollagen-Implantat entweder zu rasch resorbiert oder aber als Fremdkörper ausgestossen wird.
2. Bei vorliegender zu starker Knochendestruktion besitzt das heterologe, denaturierte Kollagen-Implantat keine ausreichende Stabilität.

3. Die gegenwärtige Form und Gestalt des Kollagen-Implantates weist für die formschlüssige Auslegung einer Knochenhöhle noch gewisse technische Mängel auf.

DISKUSSION

Der Sinn der vorliegenden Arbeit liegt darin, Erkenntnisse in der Knochenregeneration und Knochenneubildung unter der Anwendung verschiedener Knochen-Implantate, vor allem nach Benützung des heterologen, denaturierten Kollagen-Implantates als Implantationsmaterial in der aseptischen Knochenhöhle zu publizieren. Hierfür wurden von uns ausgiebige tierexperimentelle Vergleichsuntersuchungen und Beobachtungen durchgeführt, um die Granulationsgewebsbildung, die Bindegewebsneubildung und Knochenneubildung in der Knochendefekthöhle nachzuweisen. Aufgrund der tierexperimentellen Untersuchungsergebnisse wurde es ermöglicht, auch in der Klinik das heterologe, denaturierte Kollagen-Implantat als Füllmaterial in der aseptischen Knochenhöhle anzuwenden. Die besondere Problematik bestand darin, die Integration des aus tierischer Haut gewonnenen Kollagen-Implantates in der Knochenhöhle zu eruieren. Namhafte Autoren haben bewiesen, dass bei der Knochenregeneration und der Knochenbruchheilung eine Vielzahl von Fermentketten und Reaktionszyklen zusammenwirken, die z. T. voneinander abhängen, sich gegenseitig bei der Energiegewinnung behindern oder durch Rückkoppelung regulieren. Ähnliche Stoffwechselvorgänge müssen wir auch annehmen nach der Implantation von heterologem, denaturiertem Kollagen, wobei der durch das Kollagen-Implantat induzierte Reaktionsprozess von Mikro- und Makrophagen einerseits mit Hilfe proteolytischer Fermente den Abbau des Kollagen-Gerüsts bewirkt, während andererseits gleichzeitig von Osteoblasten und durch andere chemische Reaktionen die bei der Knochendefektheilung notwendigen Grundsubstrate für die neue Knochensubstanz geschaffen werden.

Selbstverständlich ist es wichtig, dass unter der Verwendung von heterologem, denaturiertem Kollagen bei tierexperimentellen oder klinischen Untersuchungen von diesem keine carcinogene oder antigene Wirkung ausgeht. Anhand zahlreicher Veröffentlichungen (CHVAPIL, SEIFFERT, PEACOCK, WANKE) kann dem heterologen, denaturierten Kollagen-Implantat eine cancerogene Eigenschaft nicht zugesprochen werden. Widersprüchlich sind die Aussagen über die antigene Wirksamkeit des heterologen, denaturierten Kollagens. ROTHBART und WATSON zum Beispiel haben mit Hilfe von fluoreszierenden Antikörpern eine Antigen-Antikörper-Reaktion nach Anwendung von Kollagen nachgewiesen, während WAKSMAN eine Antigenität von Kollagen ablehnt. GROSS behauptet, dass die antigene Wirksamkeit nicht kollagen-spezifisch ist, sondern von der Verunreinigung des Kollagens mit Serumproteinen abhängt. STEFFEN und Mitarbeiter berichten von Unterschieden zwischen den einzelnen Kollagen-Arten, die immunologisch nicht alle gleich zu sein

scheinen. Sie vertreten die Auffassung, dass die Antigenität, falls überhaupt vorhanden, im Sitz des Bindegewebes begründet ist, aus dem diese Kollagene stammen. PEACOCK und Mitarbeiter haben im Tierexperiment und in der Klinik nach Anwendung von Kollagen-Implantaten keine Kollagen-Antikörper im Serum gefunden. Diese Ergebnisse konnten wir aufgrund der von uns durchgeführten tierexperimentellen und klinischen Untersuchungen, bei denen nach Kollagen-Implantation in die Knochenhöhle ebenfalls keine Kollagen-Antikörper im Serum vorzufinden waren, nur bestätigen.

Die Auffassung über die Knochenregeneration in der Knochendefekthöhle divergieren auch heute noch sehr stark, besonders bei Verwendung von autologen, homoiologen oder heterologen Transplantaten. Werden in der Knochendefekthöhle oder bei der Knochenfraktur autologe, homoiologe oder heterologe Knochen-Implantate benutzt, so ist deren biologischer Wert abhängig von der osteogenetischen Potenz sowie von der Art und Dauer des knöchernen Umbaues. Die heterologe Knochenbildung wird seit VIRCHOW als metaplastischer Vorgang erklärt, worunter man den Übergang eines bereits ausgebildeten Gewebes in ein anderes, nahe verwandtes versteht. So sind z. B. BASCHKERZEW und PETROW, BIER, ZIEGLER u. a. überzeugt, dass die Osteogenese nach freier Knochen-Implantation nicht durch mittransplantierte spezifische Zellen zustande kommt, sondern als metaplastisches Umwandlungsprodukt des unspezifischen Lager-Bindegewebes anzusehen ist. BORST und HUECK aber haben diese These vom direkten Übergang des Bindegewebe stark angezweifelt; sie haben derartige Umwandlungsvorgänge als Regeneration mit Umdifferenzierung im Sinne der indirekten Metaplasie gedeutet, d. h., das Gewebe wird zuerst auf einen weniger differenzierten Zustand zurückgebildet um dann später in höher differenziertes Gewebe überzugehen.

Wie in vielen anderen wissenschaftlichen Sparten sind auch bezüglich der Osteogenese renommierte Autoren gegensätzlicher Überzeugung. MARTIN, ORELL, ENGSTRÖM erklären, für die Knochenneubildung im unspezifischen Lager-Bindegewebe seien noch undifferenzierte, pluripotente Mesenchymzellen verantwortlich, die durch zugrundegegangene Knochensubstanz zur Differenzierung in osteogenetische Gewebe angeregt werden. Andere Autoren wiederum vertreten die Meinung, die Knochenbildung sei ein ausschliesslich humoraler Vorgang. G. AXHAUSEN, BULL, KÖNIG und LEXER glaubten in eigenen Untersuchungen festgestellt zu haben, dass die spezifisch knochenbildenden Zellen von überlebenden Zellen aus dem Periost und den Havers'schen Kanälen stammen. In ihrer Meinung wurden sie von BASSETT u. Mitarbeitern und HEINE unterstützt, die ausser dem Periost und dem Endost auch den Zellen

der Havers'schen Kanälchen regenerative Fähigkeiten zugesprochen haben.

Den meisten Glauben bezüglich der Knochenbildung darf man jedoch neueren Untersuchungen von W. AXHAUSEN, BLOCK, FISCHER-WASELS, HERZOG u. a. schenken, die nach Anwendung verschiedener Knochen-Implantate die Knochen-Regeneration in zwei osteogenetische Phasen einteilen. Unter physiologischen Verhältnissen ist dabei die erste osteogenetische Phase, ausgehend von präexistenten spezifischen Zellen (Osteoblasten), die wichtigere, die oft besonders bei Verwendung von homoiologen und heterologen Implantaten, die 2. unspezifische weitgehend überdeckt. Bei Benützung von heterologem, denaturiertem Kollagen-Implantat in der Knochenhöhle besteht die 1. osteogenetische Phase in der Bindegewebsneubildung, während die Faserknochenbildung von der Peripherie her durch die spezifische Osteoblastenfunktion erfolgt.

PEACOCK u. Mitarbeiter erachten das Kollagen-Implantat als ein vielseitiges Fremdimplantat. Von Bedeutung ist es zu wissen, dass aufgrund der starken Querverbindung zwischen den Ketten von Knochen-Kollagen-Molekülen die Resorption des Knochen-Kollagens im Unterschied zum Weichteil-Kollagen weitaus geringer ist. Die Energiegewinnung für die Knochenneubildung kommt vom oxybiotischen Stoffwechsel, der im Granulationsgewebe am höchsten ist. Nach BASSETT ist eine Knochengewebs- oder Fasergewebsbildung bei Hypoxie nicht möglich. Aufgrund unserer eigenen tierexperimentellen Untersuchungen können wir annehmen, dass auch im Granulationsgewebe, das auf dem Boden des heterologen, denaturierten Kollagen-Implantates entstanden ist, ein ausreichender oxybiotischer Stoffwechsel vorhanden ist, der die Knochenneubildung fördert. Eine Knorpelbildung im heterologen, denaturierten Kollagen-Implantat konnten wir nicht beobachten.

Der operative Eingriff, wie man ihn zum Beispiel bei der Anfrischung der Frakturenenden bei Knochenbrüchen durchführt, ist für die Anregung der Gewebsproduktion von eminenter Wichtigkeit. Unter Verwertung unserer eigenen tierexperimentellen und klinischen Untersuchungen und mit Berücksichtigung der einschlägigen Literatur werden bei der Implantation von heterologem, denaturiertem Kollagen in der aseptischen Knochendefekthöhle verschiedene Phasen durchlaufen:

- 1) die Phase der Proteolyse,
- 2) die Phase der Zellanhäufung
- 3) die Phase der Mukopolysaccharidbildung
- 4) die Phase der Kollagen-Protein-Bildung und
- 5) die Phase der Ossifikation.

Ungefähr 2-3 Stunden nach Traumatisierung und Kollagen-Implantation kommt es zur Immigration von Makro- und Mikrophagen in das Kollagen-Implantat (HAMPERL, LUHR, ROGGATZ u. a.), wobei lebende Zellen das mit Blut benetzte Kollagen-Gerüst besiedeln. Diese beginnen nun, mit Hilfe ihrer proteolytischen Fermente das Implantat allmählich abzubauen. Durch diesen Vorgang werden Eiweiße zu pharmakologisch aktiven Verbindungen umgebaut, die ihrerseits entzündungserregend wirken. Diese primär-seröse Entzündung wendet sich dann ohne Erregerinvasion oder schwerwiegende Antigen-Antikörperreaktion in eine serös-zellige Entzündung um, die den Beginn eines jeden Wundheilungsprozesses darstellt. Die Zerfalls- und Abbräuprodukte innerhalb des Kollagen-Implantates werden durch die einwandernden Makro- und Mikrophagen aufgenommen, gespeichert und anschliessend aufgelöst. Das in der Knochenhöhle implantierte Kollagen schafft den für das nachdrängende Granulationsgewebe nötigen Raum, d. h., es erleichtert die Immigration. Das Einsprossen des Granulationsgewebes in das Gerüst des Kollagenimplantates ist als die 2. Phase der Bindegewebsneubildung anzusehen. Die im abgebauten Kollagen-Implantat stattfindende Phagozytose schafft ein geeignetes Gewebsumlieu, das das Einwandern und Vordringen ortsständiger Fibroblasten begünstigt. Gleichzeitig wirkt es sich positiv aus auf deren Funktion, die Fasergewebs- und Mukopolysaccharidbildung. Noch vorhandene Reste des Kollagenimplantates werden von Mikro- und Makrophagen resorbiert und aufgelöst. GUSEK, GIESEKING, HARTMANN u. a. haben nachgewiesen, dass bei der Gewebsreizung eine Vermehrung der Makrophagen neben den bereits vorhandenen Histiozyten festzustellen ist. Hierbei handelt es sich um Fibroblasten oder um Gefässwandzellen, die sich in Fibroblasten umwandeln können.

Die wesentliche Funktion der Fibroblasten besteht in der Bildung von Vorstufen der kollagenen Fasersubstanz, was hauptsächlich eine intrazelluläre Proteinsynthese bedeutet. Bei der Wundheilung tritt die Bindegewebsneubildung in 2 Phasen auf (DUNPHY u. UDUPA). Die erste ist die der Mukopolysaccharid-Bildung; in der 2. Phase läuft die Kollagen-Protein-Bildung ab. Die 1. Phase dauert vom 1. bis zum 5. Tag, wobei bereits innerhalb der ersten 24 Stunden nach Einsetzen des Traumas oder der Gewebsreizung es zur Bildung von Mukopolysacchariden kommt. Am 5. Tag setzt die Phase der Kollagen-Protein-Bildung ein, die bis zum Abschluss der Wundheilung anhält. Ungefähr am 8. Tag post trauma steigt die Zahl der kollagenen Fibrillen um die Fibroblasten beträchtlich an. Anschliessend gehen die kollagenen Fibrillen in einen Reifungsprozess über, der sich bis zum Abschluss der Narbenbildung erstreckt.

In Übereinstimmung mit der normalen Wundheilung hat sich bei unseren tierexperimentellen Beobachtungen herausgestellt, dass auch im Subcu-

tangewebe der Ratte sehr schnell Mikro- und Makrophagen in das heterologe, denaturierte Kollagen-Implantat einwandern und dieses allmählich abbauen. Ortsständige Fibroblasten inducieren sehr bald, unter gleichzeitigem fermentativen Abbau, die Bindegewebsneubildung.

Bei der Verwendung von heterologem, denaturiertem Kollagen in der aseptischen Knochenhöhle ergibt sich folgendes Bild: Während im Zentrum der defekten Höhle noch nicht abgebautes Kollagen anzutreffen ist, findet man um diesen Rest ein gefäss- und faserreiches Granulationsgewebe vor und weiter nach aussen zu bereits neugebildetes Knochengewebe.

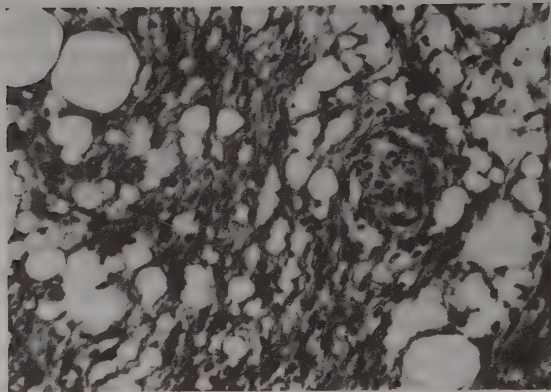


ABBILDUNG 16

Bindegewebsneubildung mit zahlreichen Fibroblasten, 20 Tage nach Implantation des heterologen, denaturierten Kollagens subcutan unter die Rückenhaut der Ratte

(HE-Färbung; Vergrößerung 25 x 10)

Neuere autoradiographische Untersuchungen haben gezeigt, dass bei der Ossifikation in der Knochenhöhle neben den Osteoblasten auch noch andere knochenbildende Zellen mitwirken, die sich aus indifferenten me-

senchymalen und reticulären Zellen entwickeln. (JOUNG, TONNA u. Mitarbeiter). Auch in der Knochenhöhle führt die Gewebsreizung zu einer Zellaktivierung, die durch Leukotaxine und Leukokinine verursacht ist. WALLRAFF hat beschrieben, dass bei der Phagocytose auch die im Markgewebe vorhandenen Reticulumzellen beteiligt sind. Die an der Knochenneubildung beteiligten Osteoblasten bewirken bei der Ossifikation zunächst die Bildung der nichtmineralisierten Knochensubstanz, des Osteoids. Das Osteoid ist dadurch gekennzeichnet, dass in ihm die an die kollagenen Fibrillen gebundenen Apatit-Kristalle fehlen, die den Fibrillen Druck- und Scherfestigkeit verleihen. Die Osteoblasten schaffen die Grundlagen für die Bildung von Tropokollagen und Mukopolysacchariden sowie ihrer eigenen Phosphatase. Diese Substratbildung scheint auf dem Boden des abgebauten heterologen Kollagen-Gerüstes begünstigt zu werden. Die Mineralisierung und Kalzifikation schliesslich sind von 2 Faktoren abhängig: Lokal von der Mitwirkung des Kollagens, der Mukopolysaccharide und der Zellen; humoral von den halbgesättigten oder stabilen Lösungen von Kalzium- und Phosphationen. Die Zellen bilden zunächst eine Matrix, die aus Kollagen oder anderen Proteinen besteht. Diese Matrix nun bewirkt die Ausfällung von Kalzium und Phosphat in Form von Hydroxylapatit.

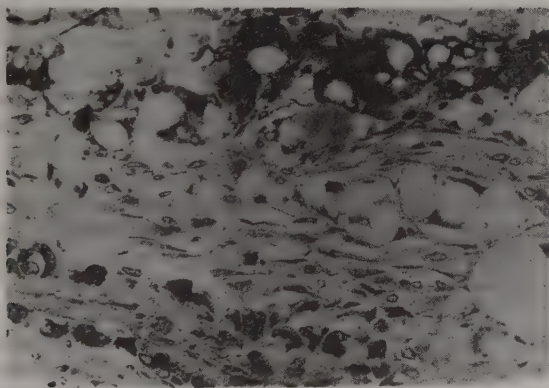


ABBILDUNG 17

Histologisches Bild - 8 Wochen nach Kollagen-Implantation in die Tibiamarkhöhle des Kaninchens (Giemsa-Färbung; Vergrösserung 25 x 10) An der Peripherie ist die Osteoidbildung mit Osteoblastensaum zu erkennen.

Bei der Anwendung des heterologen, denaturierten Kollagen-Implantates in der Klinik hat sich gezeigt, dass die Erhaltung der Stabilität des Röhrenknochens und die Schaffung einer keimarmen Knochenhöhle unabdingbare Voraussetzung ist.

Die Nachuntersuchungen am Krankengut der Chirurgischen Klinik der Universität München haben ergeben, dass - auch unter Berücksichtigung der einschlägigen Fachliteratur - autologe Implantate, wie Spongiosa, Knochenchips (MATTL, GRUNDMANN, ALLGÖWER u. a.), der homoiologe Bankknochen (EHALT), und heterologe Implantate wie der Kieler-Hartspan, die Kieler-Spongiosa (MAATZ, BAUER-MEISTER) geeignete Füllsubstanzen darstellen. In einigen wenigen Fällen kommt auch die Blut-Antibioticum-Thrombin-Plombe in Frage (WINTER u. PAPP). Die autologe Spongiosa stellt wohl das geeignetste Füllmaterial dar. Sie bietet den Vorteil der gleichzeitigen Übertragung osteogenetischer Potenzen und der Widerstandsfähigkeit des Spongiosagewebes bei möglicher Infektionsgefahr. Ihr Nachteil ist allerdings, dass sie nicht in ausreichender Quantität zur Verfügung steht und die Knochenhöhle nicht formschlüssig genug ausgefüllt werden kann.

Diese Nachteile sind beim heterologen, denaturierten Kollagen-Implantat nicht der Fall. Ausserdem ist bei Anwendung des heterologen, denaturierten Kollagen-Implantates die sofort einsetzende lokale Blutstillung vorteilhaft, ebenso bei zusätzlicher lokaler Antibioticum-Applikation die dadurch hervorgerufene Infektionsprophylaxe; hierbei ist von besonderem Vorteil, dass das Kollagen-Implantat mit jedem beliebigen, getesteten Antibioticum versetzt werden kann.

Im Vergleich zu den oben aufgeführten Füllmaterialien sind der Kieler-Hartspan und die Kieler-Spongiosa qualitativ als weniger empfehlenswert anzusehen, da sie als Füllsubstanz ungenügende Umbauvorgänge und Einheilungen aufweisen.

Zum Abschluss ist in Zusammenfassung der tierexperimentellen Untersuchungen und klinischen Beobachtungen zu bemerken, dass heterologes, denaturiertes Kollagen-Implantat in der Knochenhöhle die ihm gestellten Anforderungen erfüllt. Allerdings wäre hierbei zu ergänzen, dass die gezielte Antibioticum-Applikation und die Stabilität des Knochens gewährleistet sein müssen. Ein nicht zu gering einzuschätzender Vorteil ist, dass das heterologe, denaturierte Kollagen-Implantat im Gegensatz zur autologen Spongiosa quantitativ ausreichend verfügbar und somit als Füllmaterial für ausgedehnte Knochendefekte bestens geeignet ist. Was die Einheilungsvorgänge und die Knochenneubildung betrifft, so ist das heterologe, denaturierte Kollagen-Implantat der autologen Spongiosa qualitativ unterlegen, den übrigen heterologen Knochen-Implantaten aber überlegen.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit bestand darin, herauszufinden, ob das heterologe Kollagen als Implantationsmaterial in der aseptischen Knochenhöhle in Frage kommt. Dabei war es wichtig, in Erfahrung zu bringen, welchen Wert das heterologe Kollagen bezüglich der Granulationsgewebs- bzw. Knochenneubildung besitzt, besonders im Vergleich zu den bisher gebräuchlichen Implantationsstoffen. Bekanntlich treten immer wieder Schwierigkeiten auf, bei der Deckung von grossen Knochendefekten geeignetes und quantitativ ausreichendes Füllmaterial zu bekommen.

Im Rahmen unserer tierexperimentellen Untersuchungen an insgesamt 40 Ratten und 126 Kaninchen wollten wir als erstes Antwort darauf geben, ob das aus tierischer Haut hergestellte native Kollagen oder das von anderen Bindegewebsproteinen befreite heterologe, denaturierte Kollagen im Ein- bzw. Umbauprozess im Subcutangewebe der Ratte oder in der Knochenhöhle des Kaninchens sich unterschiedlich verhalten. Nach Abschluss der tierexperimentellen Untersuchungen konnten wir das heterologe, denaturierte Kollagen-Implantat auch klinisch in der aseptischen Knochenhöhle anwenden.

Auf Grund unserer tierexperimentellen und klinischen Untersuchungen und Erfahrungen kamen wir zu folgendem Ergebnis:

1. Bei der Anwendung von heterologen nativen und denaturierten Kollagen-Implantaten im Subcutangewebe der Ratten-Rückenhaut erfolgte eine schnelle Granulationsgewebsbildung und Bindegewebsneubildung, wobei weder bakteriologisch noch histologisch auffallende Unterschiede festgestellt werden konnten. In der aseptischen Knochenhöhle der Kaninchen - Alters- oder Gewichtsunterschied der Tiere waren ohne Bedeutung - führten die heterologen, denaturierten Kollagen-Implantate bei gleichzeitiger Applikation eines Antibioticums zu einer raschen Granulationsgewebsbildung mit sich anschliessender Bindegewebs- und Knochenneubildung.

Das heterologe native Kollagen-Implantat jedoch konnte die ihm gestellten Erwartungen nicht erfüllen, da bei dessen Anwendung eine hohe Infektionsquote auftrat. Die hierfür verantwortliche Antigen-Antikörper-Reaktion konnte bei Implantation des heterologen, denaturierten Kollagens immunologisch nicht nachgewiesen werden. Aus diesem Grund muss das heterologe native Kollagen-Implantat als ungeeignet für den klinischen Gebrauch angesehen werden.

2. Der Abbau des Kollagen-Implantates in der Knochenhöhle geschieht auf proteolytischem Wege. Seine Porosität übt eine Leitschiene-funktion für das immigrierende Granulationsgewebe aus, wodurch die Bindegewebsneubildung durch Fibroblasten und die Knochenneubildung durch Osteoblasten erleichtert wird. Das Granulationsgewebe wird vom Endost her durch Knochengewebe ersetzt, an dessen Neubildung die Osteoblasten einen entscheidenden Anteil haben.

3. Wie die günstigen röntgenologischen, bakteriologischen, szintigraphischen und histologischen Untersuchungsergebnisse zeigen, kann das heterologe, denaturierte Kollagen-Implantat in der aseptischen Knochenhöhle gefahrlos angewandt werden, wobei eine lokale Antibiotikum-Applikation zu empfehlen wäre. Bezüglich der Knochenneubildung ist das heterologe, denaturierte Kollagen der autologen Spongiosa unterlegen, allen anderen autologen und heterologen Implantaten jedoch überlegen. Ein nicht zu unterschätzender Vorteil ist, dass das heterologe, denaturierte Kollagen-Implantat immer quantitativ ausreichend zur Verfügung steht und somit auch grösste Knochendefekte formschlüssig gedeckt werden können. Durch den günstigen Gerbungszustand wird eine verlangsamte Resorption bewirkt. Erwähnenswert wäre noch das Fehlen jeglicher antigenen Eigenschaften und die Möglichkeit, das Implantat mit jedem Antibiotikum anzureichern.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

ALLGEMEINER TEIL

- BARGMANN, W.: Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen
5. Auflage
Stuttgart: Thieme 1964
- BRAUN, B.: Kunststoffe in der Medizin
Chem. Industrie 11 (1959)
- EASTOE, J.E.; EASTOE, B.:
The organic constituents of mammalian compact bone
Biochem. J. 57 (1954) 453
- EASTOE, J.E.: The amino acid composition of mammalian collagen and gelatin
Biol. J. 61 (1955) 689
- FIRSCHLEIN, H.E.; O. P. MILLER:
Comparison of calcium-⁴⁸ and carbon-¹⁴ proline as indicators of bone metabolism
Nature 212 (1966) 1252
- LINDNER, J.: In: Binde- und Stützgewebe
Darstadt: Steinkopff 1966
- NEUBERGER, A.; J. C. PERRONE; H. G. SLAKE:
The relative metabolic inertia of tendon collagen in the rat
Biochem. J. 49 (1951) 199
- NEUBERGER, A.: Stoffwechsel von Kollagen unter normalen Bedingungen
Symo. Soc. Exp. Biol. 9 (1955) 72
- SCHMITT, F.O.: Biochemical reactions of tropokollagen.
Leder 14 (1963) 21

- SCHWARZ, W.: In: BARTELHEIMER, H.:
Binde- und Stützgewebe.
Darmstadt: Steinkopff 1966
- STAUBESAND, G.: In: BARTELHEIMER, H.:
Binde- und Stützgewebe.
Darmstadt: Steinkopff 1966
- WALLRAFF, J.: Leitfaden der Histologie des Menschen.
München, Berlin, Wien: Urban & Schwarzenberg
1967

SPEZIELLER TEIL

- ALLGÖWER, M.: The cellular basis of wound repair.
Springfield: Thomas 1956
- ALLGÖWER, M.: Osteosynthese und primäre Knochenheilung.
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 308 (1964) 423
- ALLGÖWER, M.; A. ROSIN:
Das perioossäre Gewebe des normalen und frakturierten Knochens in der Gewebekultur.
Bull. Schweiz. Med. Wiss. 9 (1953) 181
- AXHAUSEN, G.: Histologische Untersuchungen über Knochentransplantationen am Menschen.
Dtsch. Zschr. Chir. 91 (1908) 388
- AXHAUSEN, G.: Kritische Bemerkungen und neue Beiträge zur freien Knochentransplantation.
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 94 (1911) 241
- BASCHKIRZEW, N. J.; N. N. PETROW:
Beiträge zur freien Knochenüberpflanzung.
Dtsch. Zschr. Chir. 113 (1912) 490
- BAUERMEISTER, A.:
Zur unterschiedlichen Gewebefreundlichkeit verschiedener Knochentransplantate.
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 292 (1959) 828

- BAUERMEISTER, A.:
Experimentelle Grundlagen für den Aufbau einer neuen Knochenbank.
H. Unfallheilk. 58 (1958)
- BIER, A.:
Über Knochenregeneration, über Pseudarthrosen und über Knochentransplantate.
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 127 (1923) 1
- BLOCK, W.:
Die Bedeutung mechanischer Faktoren bei der Knochenbruchheilung.
Arch. Klin. Chir. 196 (1939) 557
- BÖHLER, J.:
Die Knochenbank des Wiener Unfallkrankenhauses.
Wien. Klin. Wschr. 62 (1950) 22
- CHVAPIL, M.; M. KRAJICEK:
Die Analyse einiger theoretischer Probleme bei der Verwendung von Erzeugnissen aus Kollagen in der Medizin.
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 318 (1967) 80
- CHVAPIL, M.:
Physiology of connective tissue.
London: Butterworths 1967
- EHALT, W.:
Probleme und Erfahrungen mit der homo- und heterologen Gewebetransplantation in der Orthopädie.
Beitr. Orthop. 14 (1967) 585
- ENGSTRÖM, A.:
The structure of bone; an excursion into molecular biology.
Clin. Orthop. 17 (1960) 34
- EVERS, G.; H. A. HACKENSELLNER; J. NÄTHER; E. SEIDLER:
Kritische Untersuchungen zur Wertigkeit von Kie-
ler Knochen und Ossar als Transplantationsmate-
rial.
Dtsch. Ges. d. Wes. 22 (1967) 2425
- FISCHER-WASELS, J.;
(zit. bei KNÖFLER, E. W.)
- GALLIE, W. E.:
(zit. bei WINTER und PAPP)

- GROSS, N. J. : Studies on the biology of connective tissue: remodelling of collagen in metamorphosis.
Medicine 43 (1964) 291
- GROSS, N. J. ; F. O. SCHMITT :
Structure of human skin collagen as studied with the electron microscope.
J. Exp. Med. 88 (1948) 555
- GUSEK, W. : In: Binde- und Stützgewebe.
Darmstadt: Steinkopff 1966
- HAMPERI, H. ; H. LUHR :
Die "Kollagenplombe".
1. Implantation rekonstruierter Fasern.
Klin. Wschr. 42 (1964) 12
- HARKNESS, R. D. : The physiology of the connective tissue of the reproductive tract.
In: HALL, D. A. : International review of connective tissue.
New York: Academic Press 1964, Vol. 2, p. 155
- JANECEK, M. ; V. HORN ; J. FEIL :
Biology of the bone graft.
Acta Chir. Orthop. Traum. Cech. 32 (1965) 386
- KNÖFLER, E. W. : Die Knochenbildung im Lichte moderner Forschungsergebnisse.
Zbl. Chir. 90 (1965) 1960
- KÖNIG, F. : Über "Scheinheilung" als Ursache von Spätschädigungen bei Knochenbrüchen.
Zbl. Chir. 61 (1934) 1547
- KONDRAI, G. ; TARSOLY, E. :
Über die Steigerung der Einbaufähigkeit der Kieler Hartknochenpräparate.
Acta Chir. Acad. Sci. Hungaria 7 (1966) 201
- KÜHN, K. : Die Biochemie des Kollagens.
Melsunger Med. Mit. 41 (1967) 7
- LEXER, E. : Die pyogenen Infektionen und ihre Behandlung.
Stuttgart: Enke 1936

- LONGMIRE, W. P. jr.:
Homologous transplantation of tissues; clinical aspects.
J. Nat. Cancer Inst. 14 (1953) 669
- MAATZ, R.:
Die Knochentransplantation.
Zschr. Orthop. Beil. - H. zu 87 (1956) 44
- MAATZ, R.:
Der Tierspan in der Knochenbank.
Dtsch. Med. J. 8 (1957) 190
- MAATZ, R.:
Klinische Erfahrungen mit dem eiweissarmen Tierspan.
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 292 (1959) 831
- MATTI, H.:
Die Knochenbrüche und ihre Behandlung.
Berlin: Springer 1928
- ORELL, S.:
Studien über Knochenimplantation und Knochenneubildung. Implantation von Os purum, sowie Transplantation von Os novum.
Acta Chir. Scand. Suppl. 74 (1934) 31
- PEACOCK, E. E. jr.:
Inter- and intramolecular binding in Collagen of Healing wounds by insertion of methylene and amide cross-links into scar tissue.
Tensile Strength and thermal shrinkage in rats.
Ann. Surg. 163 (1966) 1
- PHEMISTER, D. B.: Bone growth and repair.
Ann. Surg. 102 (1935) 261
- ROGGATZ, J.:
Die Kollagenplombe (Homo- und Heterotransplantation rekonstruierter Fasern).
Klin. Wschr. 43 (1965) 111
- ROTHBARD, S.; R. F. WATSON:
Antigenity of rat collagen. Demonstration of antibody to rat collagen in the renal glomeruli as an etiologic factor in intravascular thrombosis.
Amer. J. Physiol. 175 (1953) 103

- SCHOENE, G.: Die heteroplastische und homoioplastische Transplantation.
Berlin: Springer 1912
- SCHWEIBERER, L.; G. HOFMEIER; I. MÜLLER:
Ist der macerierter, heterologe Knochenspan (Kie-
ler Knochenspan) ein Calluslocker?
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 319 (1967) 450
- SEGMÜLLER, G.: Spongiosaregeneration in der Millporekammer.
Helv. Chir. Acta 34 (1967) 5
- SEIFFERT, K. E.: Über die biologischen Eigenschaften konservierter
Sehnen im Tierversuch und ihre klinische Anwen-
dung.
Melsunger Med. Mitt. 41 (1967) 75
- STEFFEN, C.; R. TIMPL; J. WOLFF; H. FURTHMAYR; G. WICK:
Immunbiologie und Immunpathologie des Kollagens.
Melsunger Med. Mitt. 41 (1967) 27
- TARSOLY, E.; I. TOMORY:
Über die Heilung von mit körperfremder Substanz
ausgefüllten Knochenhöhlen im Tierexperimente.
Acta Chir. Acad. Sci. Hungaria 4 (1963) 367
- THIERSCH, K.: (zit. bei SCHOENE, G.)
- TONNA, E. A.: (zit. bei CHVAPIL, M.)
- UDUPA, K. N.; J. F. WOESSNER; E. DUNPHY:
The effect of methionine on the production of muco-
polysaccharides and collagen in healing wounds of
proteindepleted animals.
Surg. Gynec. Obstetr. 102 (1956) 639
- UEHLINGER, E.: Hypercalzämie-Syndrom.
Münch. Med. Wschr. 106 (1964) 692
- UEHLINGER, E.: Corticoide und Calciumstoffwechsel.
Melsunger Med. Mitt. 40 (1966) 197

- VIRCHOW, S.: Histochemische Studien über die Beteiligung der Mastzellen bei der Calciphylaxie.
Virchow's Arch. Path. Anat. 337 (1964) 538
- WANKE, M.; K. H. GRÖTZINGER:
Kollagenfolien als temporärer Hautersatz. Klinische und patho-anatomische Untersuchungen.
Klin. Wschr. 43 (1965) 975
- WANKE, M.: Kollagenschaumfolien als temporärer Hautersatz.
Mschr. Unfallheilk. 69 (1966) 501
- WANKE, M.; K. H. GRÖTZINGER; R. HARTMANN:
Deckung ausgedehnter flächenhafter Hautdefekte mit einer neuen Dreischicht-Kollagenfolie.
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 314 (1966) 99
- WINTER, K.; S. PAPP:
Die Osteomyelitis und ihre Behandlung.
Jena: Fischer 1964
- WITT, A. N.; M. JÄGER:
Die Berechtigung und Indikation autoplastischer Spantransplantationen in der heutigen orthopädischen Chirurgie.
Chir. Plast. Reconstruct. 2 (1966) 48

L E B E N S L A U F

Am 14. Januar 1944 wurde ich als Sohn des Facharztes für Chirurgie Dr. med. Michael Schreiber und dessen Gemahlin Marianne, geb. Ganser, in Köln geboren. Von 1950 bis 1954 besuchte ich die Volksschule an der Gebelestrasse in München und von 1954 bis 1957 das Wilhelmsgymnasium in München, von wo ich auf das Humanistische Gymnasium mit Internat der Benediktiner zu Ettal/Obb. übersiedelte. Dort legte ich im Jahre 1963 die Reifeprüfung ab.

Nach zweisemestrigen Studien der Naturwissenschaften an der Universität München begann ich das Studium der Humanmedizin im Wintersemester 1964 an der Universität Heidelberg. Nach Ableistung der naturwissenschaftlichen Vorprüfung an dieser Hochschule setzte ich mit Beginn des Wintersemesters 1965 das Studium an der Universität München fort, wo ich mich im Herbst 1970 dem medizinischen Staatsexamen unterzog. Die Medizinalassistentenzeit absolvierte ich in der Chirurgischen Privatklinik Dr. med. Michael Schreiber in München und im Städtischen Krankenhaus München-Oberföhring. Seit dem 3. Januar 1972 leiste ich meinen Wehrdienst als Stabsarzt bei der Deutschen Bundeswehr ab.

